

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS – UNIFAL-MG

JULIANE DE LIMA PASSOS

**ESTIMATIVA DA DENSIDADE DOS PERFIS DE CORPOS CELULARES DE
NEURÔNIOS NA AMÍGDALA CENTRAL E HIPOTÁLAMO LATERAL E
AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL DE CAMUNDONGOS SOB USO DE
ESTEROIDES ANABOLIZANTES**

ALFENAS/MG
2014

JULIANE DE LIMA PASSOS

**ESTIMATIVA DA DENSIDADE DOS PERFIS DE CORPOS CELULARES DE
NEURÔNIOS NA AMÍGDALA CENTRAL E HIPOTÁLAMO LATERAL E
AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL DE CAMUNDONGOS SOB USO DE
ESTEROIDES ANABOLIZANTES**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre em Ciências pelo Programa de
Pós-graduação em Biociências Aplicadas à Saúde pela
Universidade Federal de Alfenas-MG.
Área de Concentração: Fisiopatologia
Orientadora: Prof. Dra. Alessandra Esteves.

Alfenas/MG
2014

Passos, Juliane de Lima.

Estimativa da densidade dos perfis de corpos celulares de neurônios na amígdala central e hipotálamo lateral e avaliação comportamental de camundongos sob o uso de esteroides anabolizantes. / Juliane de Lima Passos. - 2014.

85 f. -

Orientadora: Alessandra Esteves

Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas à Saúde) -
Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2014.

Bibliografia.

1. Esteroides anabólicos. 2. Neurônios. 3. Animais –
Comportamento agressivo. 4. Tonsila do Cerebelo. 5. Hipotálamo. I.
Esteves, Alessandra. II. Título.

CDD: 573.86

JULIANE DE LIMA PASSOS

**ESTIMATIVA DA DENSIDADE DOS PERFIS DE CORPOS
CELULARES DE NEURÔNIOS NA AMÍGDALA
CENTRAL E HIPOTÁLAMO LATERAL E AVALIAÇÃO
COMPORTAMENTAL DE CAMUNDONGOS SOB O USO
DE ESTEROIDES ANABOLIZANTES**

A banca examinadora abaixo-assinada aprova a dissertação abaixo apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências pelo Programa de Pós-graduação em Biociências Aplicadas à Saúde pela Universidade Federal de Alfenas-MG.
Área de Concentração: Fisiopatologia

Aprovada em: 22/08/14

Prof. *Alessandra Esteres*
Instituição: *Unifal-MG*

Assinatura: *Alessandra Esteres*

Prof. *San Karim Fouad El Gohi*
Instituição: *Zufenas - MG*

Assinatura: *San Karim Fouad El Gohi*

Prof. *Letícia Almeida Eulálio Marques*
Instituição: *UNIFAL*

Assinatura: *Letícia Almeida Eulálio Marques*

Dedico a Deus, meu marido Maylon pelo amor e compreensão incansáveis, minha filha Ana Laura, razão de tudo, aos familiares e amigos pelo incentivo e apoio e aos meus pais por me fazerem acreditar sempre.

AGRADECIMENTOS

Á meu marido Maylon por todo amor e compreensão dedicados a mim, especialmente nos momentos difíceis e em que estive ausente, sempre me ajudando a levantar e seguir em frente, fazendo com que tudo valesse à pena.

Á minha filha Ana Laura, razão maior de tudo, pelo amor infinito, pelo carinho e compreensão pelos meus momentos de ausência, por ser essa menina especialmente doce que sempre tem uma palavra de conforto, um gesto de carinho, transformando o que há de mais complexo em simplicidade.

Aos colegas, funcionários e professores do Departamento de Anatomia, Melissa, Ariane, Bruno, Débora, Dauanda, Fábio, D. Cida, Prof. Wagner Rossi, Prof. João Carvalho, Prof. Geraldo Medeiros Fernandes e todos os demais colegas e professores deste departamento, que me receberam de braços abertos e me deram todo o suporte e incentivo reiniciar os trabalhos e chegar até este momento.

Aos colegas, funcionários e professores do Labaint (Laboratório de Biologia Animal Integrativa), que foram de grande importância na minha integração á UNIFAL-MG, por me abrirem às portas do laboratório e auxílio aos conhecimentos adquiridos.

Ao meu querido amigo Fernando Felicioni, pelo companheirismo, amizade, paciência, pelos ensinamentos e conselhos, por sempre me fazer acreditar que seria possível, pelo cuidado e preocupação em sempre ajudar o próximo, por estar sempre ao meu lado nesta caminhada, especialmente nos momentos mais difíceis.

Às minhas amigas Nathália Alvarez e Macarena Hernandez, por fazerem parte dessa história, seja pela dedicação no auxílio da execução dos experimentos, ou pela amizade e carinho em diversos momentos dessa caminhada.

Á Profa. Alessandra Esteves, orientadora deste trabalho, a quem me falta palavras para expressar minha gratidão, pelo acolhimento e confiança, por me fazer acreditar que este sonho era possível, pelos ensinamentos e por alimentar ainda mais o meu interesse pela busca do conhecimento e pela pesquisa. Pela amizade e dedicação incansável aos seus alunos, pelo exemplo de mestre e ser humano a ser seguido.

À Universidade Federal de Alfenas por dar todo o suporte necessário para a minha formação acadêmica.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biociências Aplicadas á Saúde, pela iniciativa de promover o desenvolvimento intelectual e formação de profissionais aptos para desempenhar atividades de pesquisa e magistério superior.

A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original.

(Albert Einstein)

RESUMO

Este estudo experimental avaliou o efeito neuronal e comportamental da administração de dois esteroides anabolizantes androgênicos (EAA), Deposteron® (Cipionato de Testosterona) e Winstrol Depot® (Stanozolol), utilizados indiscriminadamente em academias em doses supra-fisiológicas. Através de extrapolação alométrica, doses foram administradas por via intraperitoneal (IP), 0,8mg/kg/dia de Deposteron® e 1,8mg/kg/dia de Winstrol Depot®, em camundongos machos e fêmeas da linhagem *Swiss*, estes foram comparados com animais controle tratados com solução salina (0,04mL). Os animais foram submetidos à natação durante o período do experimento, simulando uma possível atividade física. Através da análise de estimativa da densidade dos perfis de corpos celulares de neurônios, este estudo mostrou-se estatisticamente significativo, quanto à redução do número de corpos celulares neuronais, no hipotálamo lateral de machos e fêmeas, e na amígdala central de fêmeas, após administração de EAA, indicativo de que esses dois EAA podem gerar danos neuronais, prejudicando funções desempenhadas por estas estruturas cerebrais. As análises de comportamento agressivo foram realizadas pelo paradigma residente-intruso e não se mostraram estatisticamente significativas, entretanto todos os animais residentes tratados mostraram comportamento agressivo, além de uma postura submissa e neutra dos animais intrusos, em contrapartida, a uma postura dominante dos animais residentes. Contudo, este estudo apresenta grande relevância científica, devido à falta de estudos morfológicos quantitativos acerca dos EAA, mostrando que a uso abusivo de EAA levam a perda neuronal, e conseqüente perda de atividade, entretanto, mais estudos se fazem necessários, devido às controvérsias quanto à relação entre o uso de EAA e comportamento agressivo.

Palavras-chave: anabolizantes, densidade, neurônios, análise comportamental.

ABSTRACT

This experimental study evaluated the behavioral and neuronal effect of two Anabolic-Androgenic Steroids (AAS) administration, testosterone cypionate (Deposteron®) and stanozolol (Winstrol Depot®), which are indistinguishably used by gym customers in hyperphysiologic doses. Using allometric extrapolation, intraperitoneal (IP) daily doses of 0.8mg/kg Deposteron® and 1.8mg/kg Winstrol Depot® were administered to male and female Swiss mice, in comparison to a control group treated with daily 0.04ml saline solution. All animals were submitted to swimming exercise during experiment time in order to simulate physical activity. By means of estimated profile analyses of neuron cell bodies density, results showed statistically significant decrease of neuron cell bodies number in lateral hypothalamus area of both male and female animals as well as in central amygdaloid area of female ones after AAS administration. The outcomes indicated that these two AAS can generate neuronal damage and impaired functions in these brain structures. Aggressive behavioral tests analyses were performed by resident-intruder paradigm and proved to be no statistically significant. Nevertheless, all resident-treated animals displayed an aggressive behavior; in contrast to a dominant attitude of resident animals, intruder ones presented themselves with a compliant and neutral attitude. For all that, we believe this study to be scientifically important due to the scarcity of quantitative morphologic researches concerning AAS and it also shows that AAS abuse lead to neuronal loss and consequent activity impairment. In our opinion, further studies are necessary because of controversies about AAS use and aggressive behavior relationship.

Key-words: anabolic, density, neuron, behavioral analysis.

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 - Representação da estimativa da densidade dos perfis de corpos celulares de neurônios no hipotálamo lateral de machos tratados com Deposteron® ----- 41
- Gráfico 2 - Representação da estimativa da densidade dos perfis de corpos celulares de neurônios no hipotálamo lateral de machos tratados com Winstrol® ----- 41
- Gráfico 3 - Comparativo da estimativa da densidade dos perfis de corpos celulares de neurônios hipotálamo lateral de machos tratados com Deposteron® e Winstrol® --- 42
- Gráfico 4 - Comparativo entre o nº de corpos celulares de neurônios em machos – D x E----- 43
- Gráfico 5 - Quantificação total de corpos celulares de neurônios no hipotálamo lateral de machos----- 44
- Gráfico 6 - Quantificação de corpos celulares de neurônios na amígdala central de machos tratados com Deposteron® e Winstrol® ----- 45
- Gráfico 7 - Comparativo entre o nº de corpos celulares de neurônios em machos – Dx E 45
- Gráfico 8 - Quantificação total de corpos celulares de neurônios na amígdala central de machos ----- 46
- Gráfico 9 - Quantificação de corpos celulares de neurônios no hipotálamo lateral de fêmeas tratadas com Deposteron® e Winstrol®----- 47
- Gráfico 10 - Comparativo entre o nº de corpos celulares de neurônios em fêmeas – D x E----- 48
- Gráfico 11 - Quantificação total de corpos celulares de neurônios no hipotálamo lateral de fêmeas ----- 49

Gráfico 12 - Representação da estimativa da densidade dos perfis de corpos celulares de neurônios na amígdala central de fêmeas tratadas com Deposteron® e Winstrol®---	50
Gráfico 13 - Comparativo entre o nº de corpos celulares de neurônios em fêmeas – D x E-----	50
Gráfico 14 - Quantificação total de corpos celulares de neurônios na amígdala central de fêmeas -----	51
Gráfico 15 - Hipotálamo lateral de machos e fêmeas tratados com Deposteron®-----	52
Gráfico 16 - Hipotálamo lateral de machos e fêmeas tratados com Winstrol® -----	52
Gráfico 17 - Amígdala central de machos e fêmeas tratados com Deposteron® -----	53
Gráfico 18 - Amígdala central de machos e fêmeas tratados com Winstrol ® -----	53
Gráfico 19 - Representação gráfica comparativa do tempo de latência para o 1º ataque em camundongos fêmeas, tratados com Deposteron® e Winstrol®-----	54
Gráfico 20 - Representação gráfica comparativa do número total de ataques realizados por camundongos fêmeas, tratados com Deposteron® e Winstrol -----	55
Gráfico 21 - Representação gráfica comparativa do tempo de latência para o 1º ataque em camundongos fêmeas, tratados com Deposteron® e Winstrol®-----	56
Gráfico 22 - Representação gráfica comparativa do número total de ataques realizados por camundongos fêmeas, tratados com Deposteron® e Winstrol -----	57

Lista de figuras

Figura 1-	Fórmulas estruturais dos esteroides -----	21
Figura 2 –	Grupo de animais de acordo com esteroide e a dosagem utilizada -----	31
Figura 3 –	Caixa plástica utilizada para a natação-----	32
Figura 4 –	Aparato utilizado para a realização do teste de agressividade-----	33
Figura 5 –	Corte frontal de um cérebro de camundongo próximo as áreas estabelecidas para o estudo. -----	34
Figura 6 –	Corte frontal de cérebro de roedor mostrando as áreas em estudo -----	34
Figura 7 –	Corte frontal de cérebro de roedor com coloração mostrando a amígdala central ----	35
Figura 8 –	Corte frontal do cérebro de camundongo mostrando a amígdala central -----	35
Figura 9 –	Corte frontal do cérebro de camundongo mostrando o hipotálamo lateral -----	36
Figura 10 –	Corte frontal do cérebro sem coloração de camundongo mostrando o hipotálamo lateral -----	36
Figura 11 –	Corte frontal do cérebro com coloração de camundongo mostrando o hipotálamo lateral -----	37
Figura 12 -	Imagem representativa de área teste desenhado em transparência e fixado no monitor do computador para quantificação -----	39

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1	ESTERÓIDES ANABOLIZANTES ANDRÓGENOS (EAA)	17
2.1.1	Definições, Usos e Histórico	17
2.1.2	Farmacologia dos EAA	19
2.1.3	Efeitos Adversos dos EAA	22
2.1.4	Relação entre os EAA com Hipotálamo e Amígdala	24
3	JUSTIFICATIVA	28
4	OBJETIVOS	29
4.1	OBJETIVOS GERAIS	29
4.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
5	MATERIAIS E MÉTODOS	30
5.1	ANIMAIS	30
5.2	TRATAMENTO	30
5.3	TESTES COMPORTAMENTAIS	32
5.3.1	Análise de Agressividade	32
5.4	COLETA E ANÁLISE MACROSCÓPICA DOS ENCÉFALOS	33
5.5	PROCESSAMENTO E COLORAÇÃO	37
5.6	ESTIMATIVA DA DENSIDADE DOS PERFIS DE CORPOS CELULARES DE NEURÔNIOS	38
5.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	39
6	RESULTADOS	40
6.1	ESTIMATIVA DA DENSIDADE DOS PERFIS DE CORPO CELULARES DE NEURÔNIOS	40
6.1.1	Hipotálamo lateral em machos	40
6.1.2	Amígdala central de machos	44
6.1.3	Hipotálamo lateral em fêmeas	46
6.1.4	Amígdala central em fêmeas	49
6.2	ANÁLISE DA AGRESSIVIDADE	54

7	DISCUSSÃO -----	58
8	CONCLUSÃO -----	65
	REFERÊNCIAS -----	66
	ANEXOS -----	85

1 INTRODUÇÃO

Os esteroides anabolizantes androgênicos (EAA) são substâncias naturais, sintéticas ou semi-sintéticas, que apresentam atividade similar à testosterona, utilizados para fins terapêuticos e no meio esportivo devido às suas propriedades anabólicas e androgênicas, promovendo o aumento de massa muscular e o peso corporal (HEBERT et al. 1984; CELOTTI; CESI, 1992; SU et al., 1993; CATLIN, 1998; KUHN, 2002).

Os hormônios esteroides são produzidos pelo córtex da supra-renal e pelas gônadas, representam a classe dos hormônios sexuais masculinos, promovendo a manutenção das características sexuais associadas à masculinidade (HANDELSMAN, 2001).

Estes fármacos são frequentemente utilizados em academias e centros de treinamento físico sem qualquer critério ou controle, representando um alto risco à saúde dos usuários (FULLER, 1993; ANDERSEN et al., 1995). Devido a este padrão abusivo na utilização dos anabolizantes, eles se tornam uma classe de fármacos muito importante do ponto de vista toxicológico (CATLIN, 1998).

Os atletas utilizam uma dose suprafisiológica de EAA visando o aumento da massa muscular e da força, diminuição do tempo de recuperação após a sobrecarga de treinamento e do tempo de recuperação das lesões (HOUGH, 1990; MARAVELIAS et al., 2005).

As doses costumam ser de 10 a 100 vezes maiores que a terapêutica, e 2/3 dos abusos ocorrem entre não atletas (POPE JUNIOR; KATZ, 1988; CUNHA et al., 2005; KAM; YARROW, 2005).

O uso indiscriminado dos EAA começou em meados dos anos 50, teve seu abuso acentuado em 1970 e continua sendo comumente utilizado apresentando efeitos nocivos á saúde (CERRO, FERNANDEZ, 1998; YONAMINE, SILVA, 2005), por estas razões, essas substâncias tiveram o uso proibido pelo Comitê Olímpico Internacional (COI) a partir de 1976, na Olimpíada de Montreal, onde foi realizado pela primeira vez o controle de anabolizantes (MARQUES et al., 2003). A partir de 1991, nos EUA, os EAA passaram a ser classificados como substâncias sujeitas a controle especial (SJÖQVIST, 1984; SHAHIDI, 2001). No Brasil estes fármacos também são substâncias de consumo controladas (KICMAN, 2008).

A superdosagem de EAA provoca diversos efeitos deletérios para o organismo, com conseqüências adversas de ordem metabólica, endócrina, cardiovascular, hepática, neurológica, estética, comportamental e psiquiátrica (MANETTA, SILVEIRA, 2000;

TAGARAKIS et al., 2000; TAKAHASHI; TATSUGI; KOHNO, 2004; KINDERMANN, 2006; REDONDO, 2007; ROCHA et al., 2007). Ainda não se sabe ao certo, como agem os EAA no cérebro humano, entretanto, há relatos de alterações no comportamento agressivo, ansiedade e depressão (POPE; KATZ, 1988; BHRKE et al., 1990; SCHULTE et al., 1993; TALIH et al., 2007; TUCCI et al., 2012).

Os circuitos neuronais corticolímbicos medeiam os comportamentos emocionais e estão implicados na fisiopatologia de transtornos psiquiátricos como agressividade, ansiedade, depressão, alcoolismo, esquizofrenia, entre outros (FRAZER; HENSLER, 1994). Pope e colaboradores (1994) sugerem que os esteroides podem causar sintomas hipomaniacos ou maníacos, incluindo particularmente comportamento agressivo ou violento em alguns indivíduos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A revisão de literatura faz uma abordagem sobre os esteróides anabolizantes androgênicos.

2.1 ESTEROIDES ANABOLIZANTES ANDRÓGENOS (EAA)

Estando subdividido nos seguintes itens: definições, usos e histórico; farmacologia dos EAA, efeitos adversos dos EAA e relação entre EAA com o hipotálamo e a amígdala.

2.1.1 Definições, Usos e Histórico.

Os esteroides anabolizantes andrógenos (EAA) são análogos sintéticos do hormônio sexual testosterona os quais aumentam a síntese protéica e o crescimento celular em diferentes tecidos (SU et al., 1993). A produção de testosterona ocorre principalmente nas células de Leydig, localizadas nos testículos e em menor quantidade nos ovários e glândulas adrenais (KOPERA, 1985; KOCHAKIAN, 1993).

A testosterona exerce seus efeitos andrógenos e anabólicos em diversas regiões do corpo incluindo os tecidos reprodutivos como testículos e ovários. Além disso, ela também atua em tecidos não reprodutivos como músculo esquelético, tecido ósseo, rins, fígado e sistema nervoso central (SNC), dentre outros (SNYDER, 1984; SHAHIDI, 2001; BASARIA; WAHLSTROM; DOBS, 2001; KICMAN, 2008).

Os EAA são indicados no tratamento de algumas patologias, como deficiência de testosterona, algumas formas de anemias, alguns casos de câncer de mama e, ocasionalmente, em associação com estrógeno, sintomas de menopausa. Outras indicações aventadas, mas não suficientemente estudadas, incluem osteoporose, distúrbios sexuais e anticoncepção masculina (BROWER, 1992a). Há estudos, inclusive, sobre os efeitos antidepressivos destes fármacos (ALTSCHULE; TILLOTSON, 1948; VOGEL et al., 1985).

Os efeitos de potencialização do desempenho esportivo e aumento de força de fármacos androgênicos são conhecidos desde a antiguidade. Competidores olímpicos ingeriam testículos de touro para melhorar as suas marcas, além disso, alterações de comportamento também foram notadas. No tratado *Historia Animalium*, Aristóteles observou que a castração de pássaros imaturos do sexo masculino impede o desenvolvimento do canto e o comportamento sexual característico dos machos (RUBINOW; SCHMIDT, 1996).

Assim, Brown-Séquard, pesquisador considerado um visionário da ciência por Aminoff, afirmava que a administração subcutânea de extratos de testículos, de porcos ou cães, trataria com sucesso diversas doenças, desde diabetes a dispepsia. Utilizando esse procedimento em si mesmo, ele descreve perceber aumento da força, disposição e agilidade mental (AMINOFF, 1993).

Também se realizava o transplante de testículos de animais para homens e a ligação dos ductos deferentes (procedimento de Steinach), ao qual até mesmo Freud se submeteu, em novembro de 1923, com o objetivo de ajudar seu sistema imunológico na briga contra o câncer e melhorar sua capacidade de encontrar prazer no trabalho e na atividade sexual (ROSEN, 1994).

À procura da "substância testicular ativa", em 1931, foi isolada a androsterona, em 1934, a deidroepiandrosterona e em 1935, finalmente, a testosterona, protótipo dos androgênios (WILSON, 1996).

A testosterona foi sintetizada em 1939, durante a 2ª Grande Guerra, onde foi utilizada pelas tropas alemãs para aumentar a agressividade dos soldados (GHAPHERY, 1995; WILSON, 1996). Seu uso terapêutico até esta época restringia-se ao tratamento de pacientes queimados, deprimidos ou em recuperação de grandes cirurgias. Em 1939 foi sugerido que sua administração poderia melhorar a performance de atletas (GHAPHERY, 1995).

Nos anos 50, foi utilizada sob forma oral e injetável no tratamento de alguns tipos de anemia, em doenças com perda muscular, bem como em pacientes pós-cirúrgicos para diminuir a atrofia muscular (GHAPHERY, 1995).

No entanto, um dos primeiros relatos da utilização de EAA sintéticos com objetivos não terapêuticos ocorreu em 1954, na Áustria, em um campeonato de levantamento de peso em Viena, onde foi utilizado como forma de ampliar o desempenho destes atletas (THEIN et al., 1995; SCOTT et al., 1996; CREUTZBERG, 1999; CUNHA et al., 2004).

O uso de EAA foi difundido com finalidades esportivas, a partir de 1964 (THEIN, et al., 1995; LUKAS, 1996), desde então, as mesmas vêm despertando a atenção de profissionais da área da saúde e pesquisadores devido à sua grande utilização por atletas profissionais e amadores, com o objetivo de aumentar a massa muscular, melhorar o desempenho físico e a estética corporal (CREUTZBERG, 1999; CUNHA et al., 2004).

No Brasil, os EAA causam "doping", quando administradas em dois ciclos seguidos, segundo os critérios da Portaria 531, de 10 de julho de 1985 do MEC (GIBSON, 1994; THEIN et al., 1995), seguindo a legislação internacional. O termo "doping" deriva de um

dialeto africano e refere-se a uma bebida estimulante usada em cerimônias religiosas (THEIN et al., 1995).

O Comitê Olímpico Internacional define como “doping”, ou seja, dopagem, o uso de qualquer substância exógena ou endógena em quantidades ou vias anormais com a intenção de aumentar o desempenho do atleta em uma competição (GOLDWIRE; PRICE, 1995).

2.1.2 Farmacologia dos EAA

Os androgênios são hormônios que têm como função a diferenciação, o crescimento e o desenvolvimento do trato reprodutivo masculino, assim como o desenvolvimento e a manutenção das características sexuais secundárias (VELDHUIS, 1991). Também apresentam efeitos anabolizantes, estimulando o crescimento corporal e o aumento de massa muscular. Estruturalmente, fazem parte da família dos hormônios esteroides, que são derivados do colesterol e se compõe por um esqueleto básico de quatro anéis de carbono. Além dos androgênios, fazem parte desse grupo a progesterona, o estradiol, o cortisol, a aldosterona, entre outros (RUBINOW; SCHMIDT, 1996).

Os chamados anabolizantes são derivados sintéticos da testosterona e foram desenvolvidos com o objetivo de minimizar seus efeitos masculinizantes, maximizando assim os efeitos sobre a síntese protéica e o crescimento muscular (HAUPT; ROVERE, 1984). São compostos por dois grupos: derivados esterificados e derivados alcalinizados. Os primeiros (propionato de testosterona, enantato de testosterona e cipionato de testosterona) são produtos de administração intramuscular e permanecem ativos por dias a semanas, enquanto os componentes do segundo grupo devem ser tomados, por via oral, diariamente (WILSON, 1988).

Uma vez que tanto os androgênios como os anabolizantes não têm efeitos puramente androgênicos ou anabolizantes, o mais adequado é chamar a todos de esteroides anabólico-androgênicos (EAA) (American College of Sports Medicine-ACSM, 1987).

A testosterona não é substância ativa; na circulação age como pró-hormônio na formação de duas classes de esteroides: andrógenos 5- α -reduzidos (dihidrotestosterona), que

são mediadores intracelulares da maioria das ações androgênicas, e estrógenos (estradiol) que potencializam alguns efeitos androgênicos, enquanto bloqueiam outros (WILSON, 1996).

A testosterona é convertida em vários outros metabólitos ativos como estradiol, androsterona, 3- α -hidroxi-5- β -androsta-17-ona e androstenediona. As substâncias ativas, inclusive metabólitos reduzidos (5- α -redutase) atravessam a membrana celular e liga-se com alta especificidade e baixa afinidade a receptores citoplasmáticos para esteroides. O complexo droga-receptor é translocado para o núcleo e ligam-se à cromatina, induzindo a transcrição do o ácido desoxirribonucléico (DNA) com formação do ácido ribonucléico (RNAm) e a produção de proteínas específicas e ocasionando seus efeitos (WILSON, 1996).

Todos os esteroides anabolizantes sintéticos e semi-sintéticos comercializados são derivados da testosterona (LUKAS, 1993; GHAPHERY, 1995; WILSON, 1996). Esses fármacos podem ser administrados por via retal, implante de cápsulas, nasal ou transdérmica para suplantam o metabolismo de primeira passagem no fígado (WILSON, 1996).

Para minimizar ou excluir o metabolismo hepático, a própria indústria farmacêutica também estudou modificações na estrutura molecular dos compostos, originando três grupos de derivados: ésteres do grupo 17- β - hidroxil; alquilados na posição 17- α ; com o anel esteroide alterado (THEIN et al., 1995).

A alquilação e a alteração do anel esteroide são usadas preferencialmente nas preparações via oral (etinilestradiol, fluoximeterona, metandrostenolona, oximetolona, metilt testosterona, stanozolol). A alquilação na posição 17- α retarda marcadamente a metabolização hepática, aumentando a efetividade oral (LUKAS, 1993).

Estes derivados têm boa absorção gástrica, sendo excretados rapidamente devido a sua meia-vida curta, sendo altamente potentes, porém mais tóxicos ao fígado do que os injetáveis. A esterificação é útil nas preparações parenterais (cipionato ou propionato de testosterona, nandrolona) (GHAPHERY, 1995; MELO, 1996-1997).

A esterificação do grupo 17- β -hidroxil com ácidos carboxílicos diminui a polaridade da molécula tornando-a mais solúvel nos veículos lipídicos para preparações injetáveis de liberação lenta do esteroide na circulação e, ocasionam menor toxicidade hepática que os orais, além de terem menor potência, porém, quanto maior a cadeia carbônica do éster, mais lipossolúvel se torna o esteroide e mais prolongada sua ação (LUKAS, 1996).

Os ésteres 17- β -hidroxilados da testosterona que têm mais longa duração de ação, como o enantato e o cipionato de testosterona, são as preparações mais efetivas, seguras e práticas disponíveis para o tratamento da deficiência de testosterona (MATSUMOTO, 1996).

No Brasil é possível encontrar preparações contendo cipionato, decanoato, undecanoato ou propionato de testosterona, nandrolona, metiltestosterona e oximetolona (MELO, 1996-1997).

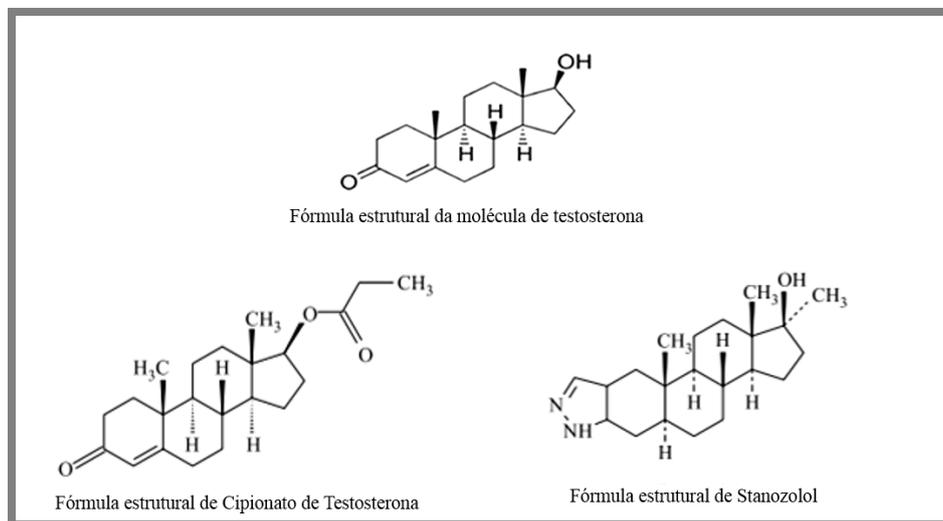


Figura 1 - Fórmulas estruturais dos esteroides.
Fonte: Cunha, 2004.

Em um estudo realizado por Acevedo et al., 2011, em Porto Rico, no período de 2000 a 2009, mostra que o uso indevido de esteroides anabolizantes androgênicos foi detectado entre os atletas do sexo masculino (62%) e sexo feminino (38%), sendo que, o estanozolol foi o EAA mais comumente utilizado (60%, utilizados individualmente ou como parte de um cocktail). A testosterona é o anabolizante endógeno mais comumente utilizado (10%).

Alguns dos métodos de administração utilizados para aumentar o efeito dos anabolizantes são: 1) “Empilhamento” (Stacking), quando há uso de duas ou mais substâncias concomitantemente e/ou combinação do uso oral e injetável; 2) “Pirâmide”, o EAA é iniciado em baixa dosagem aumentando até 10-100 vezes o valor inicial atingindo um pico, com retorno gradual às doses iniciais; 3) “Ciclos” (*cycling*), em que há uso por 6 a 12 semanas, interrupção por 3-4 semanas e repetição do ciclo com suspensão do uso com algumas semanas antes da competição; e 4) “Mista”, uma combinação destes esquemas (LUKAS, 1993; THEIN et al., 1995; GHAPHERY, 1995; GOLDWIRE; PRICE, 1995).

2.1.3. Efeitos Adversos dos EAA

O uso de altas doses de EAA pode acarretar vários efeitos colaterais, tais como; alterações das enzimas hepáticas, icterícia, tumores hepáticos (JOHNSON, 1985; FRIEDL, 1990; BROWER, 1993; YESALIS et al., 1996; YESALIS et al., 1996), alterações no metabolismo lipídico (FRIEDL, 1990; KUIPERS et al., 1991; BROWER, 1993), alto risco para doença coronariana (FRIEDL, 1990; BROWER, 1992a), tumores malignos e hemorragias por ruptura de cistos, podendo levar à morte. (FRIEDL, 1990; BROWER, 1993).

Outros estudos apontam outros efeitos adversos como, hipertensão, hipertrofia cardíaca, insuficiência renal, , disfunção hepática, entre outros, podendo provocar danos à saúde (DONAHUE; LOWENTHAL, 2000; HARTGENS, 2004; KUIPERS, 2004; HALL, 2005; BONETTI et al., 2008). Pode haver risco de lesões no aparelho locomotor, pois a estrutura osteoarticular não acompanha o crescimento muscular (PEDRINELLI, 1993).

Em mulheres, pode haver a ocorrência de atrofia mamária, ciclos menstruais irregulares, masculinização, esterilidade, alterações da libido (aumento ou diminuição), e a alteração no tom de voz das mulheres (FRIEDL, 1990; BROWER, 1993), acne, hirsutismo, aumento do clitóris (FRIEDL, 1990; BROWER, 1993; DONAHUE; LOWENTHAL, 2000; HARTGENS, 2004; KUIPERS, 2004; HALL, 2005; BONETTI et al., 2008).

Em homens, pode haver a ocorrência de tumores de próstata (JOHNSON, 1985; FRIEDL, 1990; BROWER, 1993; YESALIS et al., 1996; YESALIS et al., 1996), hipertrofia prostática (DONAHUE; LOWENTHAL, 2000; HARTGENS, 2004; KUIPERS, 2004; HALL, 2005; BONETTI et al., 2008;), assim como o aparecimento de broto mamário doloroso (FRIEDL, 1990; BROWER, 1993), atrofia do tecido testicular (JOHNSON, 1985; FRIEDL, 1990; BROWER, 1993; YESALIS et al., 1996), calvice (KUIPERS, 2004).

Entre crianças e adolescentes, os possíveis efeitos dos EAA são fechamento epifisário prematuro, acne, calvície precoce, policitemia, exacerbação da apnéia do sono e tiques (BROWER, 1992a). Diversos estudos afirmam ainda, que a adolescência é um período determinante ao qual ocorre o desenvolvimento de mecanismos neurocomportamentais de regulação do comportamento agressivo, e neste período os adolescentes são particularmente sensíveis à circulação de andrógenos (MATTSSON et. al., 1980; DABBS et. al., 1991; SCERBO; KOLKO, 1994).

Resultados de estudos realizados por Racca et al., 2012, mostram que a administração prolongada de uma dose supra terapêutica de nandrolona em ratos, pode desregular a cascata hormonal induzida pelo estresse, que desempenha um papel crucial na psicopatologia depressiva.

Em relação às alterações comportamentais, os EAA podem provocar alterações de humor (GRUBER; POPE, 2000) e de comportamento (BAHRKE et al., 2000), transtornos afetivos que podem levar a comportamento agressivo e violento (SCHWERIN et al., 1996; POPE; KATZ, 1998; POPE et al., 2000;), ansiedade e depressão (BAHRKE et al., 1990 e SCHULTE et al., 1993), psicose ou mania (ANNITTO e LAYMAN, 1980; FREINHAR e ALVAREZ, 1985; POPE; KATZ, 1987; DRIESSEN et al., 1996) e sintomas depressivos na abstinência desses agentes (TENNANT et al., 1988). Muitos também são os relatos de atos violentos e crimes, inclusive assassinato, cometidos por indivíduos que nunca tiveram comportamento comparável antes do uso de EAA (CONACHER; WORKMAN, 1989; CHOI, et al., 1990; POPE; KATZ, 1990; DALBY, 1992; SCHULTE et al., 1993).

Entre os estudos clínicos que pesquisaram as propriedades antidepressivas de EAA (ALTSCHULE; TILLOTSON, 1948; VOGEL et al., 1985) existe um que relata o desenvolvimento de delírios paranoides, 4 entre 5 homens, quando metiltestosterona foi acrescentada ao tratamento com imipramina (WILSON et al., 1974). Em um estudo laboratorial efeitos psiquiátricos de altas doses de EAA foram identificados (SU et al., 1993). Em uma comparação entre placebo, metiltestosterona 40 mg/dia e metiltestosterona 240 mg/dia, administradas 3 dias cada, em 20 homens normais, a dose mais alta produziu, na amostra como um todo, efeitos psiquiátricos leves, porém estatisticamente significativos. Além disso, um sujeito, quando recebendo essa dose mais alta, desenvolveu um episódio agudo de mania.

Trabalhos realizados com hamsters mostram que a utilização de EAA na adolescência, leva ao desenvolvimento de altos níveis de agressividade ofensiva, apresentando alterações em regiões neuroanatômicas selecionadas do cérebro, implicando na agressão ofensiva (GRIMES et al., 2003; RICCI et al., 2005; RICCI et al., 2007; FISCHER et al., 2007, JARED et al., 2009).

Devido ao mau uso desses fármacos e os possíveis efeitos adversos acarretados pelo abuso dessas substâncias, torna-se um problema de saúde pública e por essa razão, em 1990, o Congresso dos EUA aprovou lei que torna esses medicamentos de uso controlado, ou seja, que exigem receita especial, controlada pelo governo, para sua obtenção (BROWER, 1993).

Entretanto, graças a um mercado negro, continuam sendo obtidas à margem desse controle (SCOTT et al., 1996).

2.1.4 Relação entre EAA com o Hipotálamo e Amígdala

Os circuitos neuronais que medeiam os comportamentos emocionais estão implicados na fisiopatologia de transtornos psiquiátricos como agressividade, ansiedade, depressão, alcoolismo, esquizofrenia, entre outros (FRAZER; HENSLER, 1994).

Estes circuitos incluem, dentre outras estruturas, a amígdala, o tálamo e o hipotálamo. O hipotálamo é uma peça fundamental no controle da homeostasia do meio interno, bem como está criticamente envolvido no controle neural de comportamentos motivados. Localiza-se acima da hipófise e ocupa a posição ventral do diencéfalo ao redor do terceiro ventrículo, podendo ser dividido em três zonas longitudinais (periventricular, medial e lateral) e quatro regiões distintas no sentido rostrocaudal (pré-óptica, anterior, tuberal e mamilar). A zona periventricular exerce um papel fundamental no controle do sistema endócrino através do controle da secreção de hormônios hipofisários e pode controlar diretamente o sistema nervoso autônomo (AIRES, 1999).

A amígdala, ou complexo amigdalóide compreende 13 núcleos, com amplas conexões internucleares e intranucleares. Os núcleos da amígdala são divididos basicamente em três grupos; o grupo profundo (basolateral), que abrange o núcleo lateral, núcleo basal e núcleo lateral secundário; o grupo superficial (cortical), que contém os núcleos corticais e o núcleo do trato olfatório lateral; e também o grupo centromedial, composto dos núcleos medial e central (PRICE et al., 1987; MCDONALD, 1998).

As relações entre a amígdala e o hipotálamo estão intimamente ligadas às sensações de medo e raiva. A amígdala é responsável pela detecção, geração e manutenção das emoções relacionadas ao medo, bem como pelo reconhecimento de expressões faciais de medo e coordenação de respostas apropriadas à ameaça e ao perigo (PHAN et al., 2002, DE GELDER et al., 2004, HOISTAD et al. 2008). Ela exerce ligação essencial entre as áreas do córtex cerebral, recebendo informações de todos os sistemas sensoriais. Estas, por sua vez, projetam-se de forma específica aos núcleos amigdalianos, permitindo a integração da informação proveniente das diversas áreas cerebrais, através de conexões excitatórias e inibitórias a partir de vias corticais e subcorticais (WILLIAMS et al., 2006).

Os núcleos basolaterais são as principais portas de entrada da amígdala, recebendo informações sensoriais e auditivas; já a via amígdalofugal ventral e a estria terminal estabelecem conexão com o hipotálamo, permitindo o desencadeamento do medo (BEAR et al., 2002). Além do córtex e do tálamo auditivos, áreas ventrais do hipotálamo projetam-se para os núcleos basolateral e basomedial da amígdala, havendo, em casos de lesão dessas áreas, interferência na geração do condicionamento (LE DOUX, 2003).

Uma das primeiras estruturas associadas à raiva e agressividade, foi o hipotálamo, em decorrência de estudos realizados na década de 1920, que demonstraram que o hipotálamo posterior estaria envolvido com a expressão de raiva e agressividade, enquanto o telencéfalo mediaría efeitos inibitórios sobre esse comportamento (BEAR et al., 2002).

A raiva é manifestada basicamente por comportamentos agressivos, os quais dependem do envolvimento de diversas estruturas e sistemas orgânicos para serem expressos. Além disso, esse comportamento também admite variações de acordo com o estímulo que o evoca. Durante a década de 1960, John Flynn identificou que esses comportamentos agressivos eram provocados pela estimulação de áreas específicas do hipotálamo, localizadas no hipotálamo lateral e medial, respectivamente (FLYNN, 1967).

A raiva, assim como o medo, é uma emoção relacionada às funções da amígdala, em decorrência de conexões com o hipotálamo e outras estruturas. A estimulação elétrica dos núcleos basolaterais da amígdala ativa o hipotálamo e os núcleos do tronco encefálico, provavelmente através da via amígdalofugal ventral, produzindo comportamento típico de agressão afetiva (BEAR et al., 2002).

O Sistema Nervoso Autônomo (SNA) está diretamente envolvido nas denominadas “situações de luta e/ou fuga” e imobilização (STRAUMANN et al., 2004) toda vez que a pessoa percebe o meio ambiente como “ameaçador”, a amígdala estará livre para desencadear estímulos excitatórios sobre a região lateral e dorsolateral da substância cinzenta periaquedutal, que então estimula as vias do trato piramidal, produzindo respostas de luta e/ou fuga. Além disso, há casos em que a pessoa responde a tais situações como se estivesse paralisada; essa resposta decorre da estimulação da região ventrolateral ao aqueduto cerebral, que também estimula as vias neurais do trato corticoespinal lateral. Em situações de luta-fuga ocorre elevação da frequência cardíaca e da pressão arterial; de outro modo, nas situações de imobilização ocorre intensa bradicardia e queda da pressão arterial (PORGES, 2003).

Algumas evidências recentes indicam que os EAA podem alterar aspectos morfológicos e neuroquímicos de sinapses glutamatérgicas no hipotálamo, hipocampo e

córtex cerebral e, com isso, ter implicações comportamentais importantes (LE GREVES et al., 1997; ROSSBACH et al., 2007).

A serotonina é um neurotransmissor implicado no controle de comportamentos agressivos em seres humanos (COCCARO et al., 1997), e segundo estudo realizado por GRIMES e MELLONI, 2002, animais tratados com EAA apresentaram redução de inervação de serotonina, no hipotálamo anterior, hipotálamo ventro-lateral e amígdala medial, quando comparados ao controle. Outros estudos realizados com hamster sírio demonstraram que a serotonina regula a atividade agressiva no hipotálamo anterior e hipotálamo lateral (DELVILLE et al., 1996; FERRIS, 1996; FERRIS et al., 1996; FERRIS et al., 1997).

A dopamina é outro neurotransmissor que também tem sido associada ao comportamento agressivo, pois tem sido encontrada em algumas áreas do cérebro, incluindo áreas associadas ao comportamento agressivo como: hipotálamo, septo, núcleo da estria terminal e diferentes núcleos amigdalóides (MOGHADDAM, 2000; WOMMACK e DELVILLE, 2002; PIRNIK e KISS, 2005). O RNA mensageiro (mRNA) de dopamina foi localizado em áreas associadas à agressão, tais como hipotálamo ventromedial e ventrolateral e amígdala central e medial (MANSOUR et al., 1990; WEINER et al., 1991; JARED et al., 2010).

Em hamster sírio, o hipotálamo anterior tem mostrado ser o centro de mediação do controle de agressão ofensiva, conexões recíprocas entre o hipotálamo anterior e outros núcleos límbicos hipotalâmicos como o hipotálamo ventrolateral e medial, amígdala medial e central, septo lateral e núcleos da estria terminal, são parte de um circuito neural relacionado a fenótipos de agressão (FERRIS et al., 1984; DELVILLE et al., 2000).

Alguns estudos investigam mecanismos moleculares cerebrais relacionados aos efeitos comportamentais de altas doses de EAA em roedores (MCINTYRE et al., 2002). Roedores recebendo injeções de EAA em doses suprafisiológicas > 3 mg/kg/dia (CLARK e HENDERSON, 2003) mostraram aumento na agressão social (BREUER et al., 2001; HARRISON et al., 2000), sendo os efeitos freqüentemente dependentes da espécie e linhagem do animal, bem como do tipo de EAA administrado (CLARK; HENDERSON, 2003).

Estudos recentes em modelos animais demonstraram que o uso crônico e o abuso de esteroides anabolizantes (stanozolol) reduzem os níveis de fator neurotrófico derivado do cérebro e dopamina no hipocampo e córtex pré-frontal. Além da redução na expressão dos receptores de glucocorticóides no hipocampo e no plasma e aumento dos níveis basais matinais de cortisol plasmático. Estas alterações metabólicas têm sido relacionadas a distúrbios do humor, como a depressão (TALIH et al., 2007; TUCCI et al., 2012).

Dessa forma, considerando que o sistema monoaminérgico regula o comportamento humano, a agressividade, o comportamento sexual, o medo e a ansiedade; pode-se sugerir uma possível correlação entre alterações das monoaminas geradas pelos esteroides anabolizantes e as alterações comportamentais e os distúrbios do humor (HENDERSON et al., 2006; TUCCI et al., 2012).

Segundo Damião et al., 2012, o tratamento de camundongos com esteroides anabolizantes, levou a uma diminuição significativa na quantidade de corpos celulares de neurônios no córtex cerebral destes animais, quando comparados aos animais do grupo controle, que foram tratados com solução fisiológica.

Até o presente momento, são poucos os estudos realizados acerca de quantificação de corpos celulares neuronais, relacionados a outras análises que possam levar a resultados expressivos na tentativa de elucidar os possíveis efeitos deletérios dos esteroides anabolizantes androgênicos à saúde de seus usuários.

3 JUSTIFICATIVA

Até o presente momento, diversos estudos foram realizados com as principais classes de esteroides anabolizantes existentes no mercado, com a finalidade de provar que o uso abusivo destes fármacos pode acarretar diversos danos à saúde de seus usuários, tais como doenças cardiovasculares, endócrinas e neurológicas, onde a grande maioria destes, são jovens adeptos a prática de atividades físicas que buscam um aumento de massa muscular e peso corporal em pouco tempo, visando apenas o benefício estético sem qualquer critério ou controle, representando um alto risco de dano à saúde.

Alguns desses danos podem ser provocados por alterações comportamentais, que podem gerar comportamentos agressivos, depressivos ou mesmo psicóticos nos usuários de EAA.

Portanto, dentro deste contexto, o presente estudo visa elucidar de forma quantitativa, possíveis danos à unidade morfofuncional do Sistema Nervoso, o neurônio, que podem ser acarretados pelo uso abusivo destes anabolizantes, neste trabalho foi utilizado Deposteron® (Cipionato de Testosterona) e Winstrol Depot® (Stanozolol), mostrando que esses fármacos podem levar a diminuição da densidade de perfis de corpos celulares neuronais e alterações comportamentais de natureza agressiva, podendo gerar graves doenças neurológicas que necessitarão de tratamento farmacológico e possivelmente psicossocial.

4 OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho foram divididos em objetivos gerais e específicos.

4.1 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar a ocorrência de possíveis danos em áreas cerebrais (amígdala central e hipotálamo lateral), acarretados pelo uso abusivo de esteroides anabolizantes androgênicos (EAA) em camundongos da linhagem Swiss machos e fêmeas, comparados ao seu grupo controle, tratados com solução salina, analisando possíveis alterações quanto ao número de corpos celulares de neurônios do complexo amigdalóide e hipotálamo lateral, analisando ainda, os possíveis efeitos de tais drogas no comportamento de camundongos machos e fêmeas.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos consistem:

- a) Avaliar os efeitos deletérios ao sistema nervoso de camundongos sob o uso crônico dos anabolizantes Deposteron® (Cipionato de Testosterona) e Winstrol Depot® (Stanozolol) através da estimativa da densidade dos perfis de corpos celulares de neurônios na amígdala central e hipotálamo lateral.
- b) Observar alteração nos comportamentos agressividade nos animais tratados, quando comparados ao grupo controle.
- c) Comparar os dados acima descritos entre os sexos estudados.

5 MATERIAL E MÉTODO

5.1 ANIMAIS

Foram utilizados neste projeto 60 camundongos da linhagem Swiss, sendo 30 machos e 30 fêmeas, com idade aproximada de 90 dias (jovens-adultos), peso corpóreo entre 40 e 50 gramas, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Alfenas, Unifal- MG, os quais foram alojados em caixas contendo 5 animais cada, tratados com ração comercial e água “ad libitum” e mantidos em ciclo de 12 horas claro-escuro.

O presente estudo está de acordo com os princípios éticos de utilização animal tendo sido aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Unifal-MG, protocolo nº 505/2013, conforme Anexo A.

5.2 TRATAMENTO

O tratamento dos animais foi realizado no Biotério Central da Universidade Federal de Alfenas. Consistiu-se na aplicação, por via intraperitoneal (IP), de dois EAA: o primeiro, comercializado com o nome de Deposteron® (Cipionato de Testosterona) e o segundo, comercializado pelo nome de Winstrol Depot® (Stanozolol). Os grupos controle receberam administração de solução salina estéril a 0,9%, conforme Figura 1. Os animais foram tratados durante 30 dias, com aplicações realizadas duas vezes por semana (nas terças e quintas feiras).

Os animais foram divididos em três (3) grupos experimentais (n=20): Para realização dos experimentos, o total de 60 animais foram divididos em 6 grupos de 10 animais cada. Grupo 1 (10 machos e 10 fêmeas tratados com Deposteron®, submetidos a natação), Grupo 2 (10 machos e 10 fêmeas tratados com Winstrol Depot®, submetidos a natação); Grupo 3 - Controle (10 machos e 10 fêmeas tratados com solução fisiológica, submetidos a natação) conforme tabela 1.

As doses utilizadas foram baseadas na quantidade de EAAs utilizada pelos usuários frequentadores de academias. Porém, a princípio, essa dose foi letal aos animais e, devido a isso, adequamos uma dose que é considerada alta, porém, não letal. Para isso utilizamos o método de Extrapolação Alométrica para chegarmos às doses não letais, porém supra-fisiológicas (MAHMOOD, 2007).

Grupos	Número de Animais	Esteroide	Dosagem	Treinamento
Grupo 1	10 machos 10 fêmeas	Grupo controle (Solução fisiológica)	0,04 ml/dia	Natação
Grupo 2	10 machos 10 fêmeas	Deposteron® (Cipionato de Testosterona)	0,8mg/kg /dia	Natação
Grupo 3	10 machos 10 fêmeas	Winstrol Depot® (Stanozolol)	1,8mg/kg /dia	Natação

Figura 2- Grupo de animais de acordo com esteroide e a dosagem utilizada.

Fonte: Do autor

Os animais, um dia após receberem as doses, foram submetidos à natação por 15 minutos, 3 vezes por semana, realizado em um recipiente medindo 43x34x26cm (Figura 2), contendo no seu interior água na temperatura de 24-26°C até a borda, de modo que os animais não toquem o fundo do recipiente, impedindo-as de sustentarem o seu peso com as patas.



Figura 3: Caixa plástica utilizada para a natação.

Fonte: Do autor

5.3 TESTES COMPORTAMENTAIS

Após o período de 30 dias do tratamento realizado com os animais, foram então realizados os experimentos comportamentais no horário das 14 e 18h. As análises foram feitas de maneira cega para as condições experimentais.

5.3.1 Análise da agressividade

Para este teste foi utilizado o paradigma residente intruso. Os animais a serem testados (residentes) foram isolados em suas gaiolas no início do tratamento. Por um período de 3 (três) dias que precede o teste, suas gaiolas não foram limpas a fim de manter a marcação territorial do residente pelo cheiro de sua urina. Um camundongo macho jovem, não relacionado ao tratamento e mantido agrupado em gaiolas, e, portanto não agressivo, foi colocado na gaiola do residente. Este *intruso* servirá como estímulo em cada pareamento de 15 min. Cada intruso foi utilizado uma única vez por dia de experimento (Figura 3). Os

confrontos foram gravados e, de acordo com Nelson & Chiavegatto, 2000, os seguintes parâmetros foram quantificados:

- 1) latência para o primeiro ataque;
- 2) número total de mordidas.



Figura 4: Aparato utilizado para a realização do teste de agressividade.

Fonte: Do autor.

5.4 Coleta e Análise Macroscópica dos encéfalos

Os animais foram eutanasiados por meio do anestésico Alotano®, e após a identificação de cada animal, iniciamos, o seguinte procedimento: após craniotomia realizada, os encéfalos foram inteiramente retirados e identificados, posteriormente lavados em solução fisiológica e fixados em paraformaldeído 4% em tampão fosfato pH 7,4 0,1M. Os encéfalos permaneceram imersos nesta solução fixadora por 2 dias, seguindo o protocolo utilizado por Rabinowicz et al. (2000). Em cada encéfalo foram retiradas amostras em cortes frontais, seriadas e homotípicas (BROWN; AGGLETON, 2001) (Figura 4) para que seja possível avaliar as áreas então estabelecidas para este estudo (PAXINOS; FRANKLIN, 2012; STRIEN et al., 2009).



Figura 5: Corte frontal de um cérebro de camundongo próximo as áreas estabelecidas para o estudo.

Fonte: Departamento de Anatomia (DAnat) da Unifal-MG.

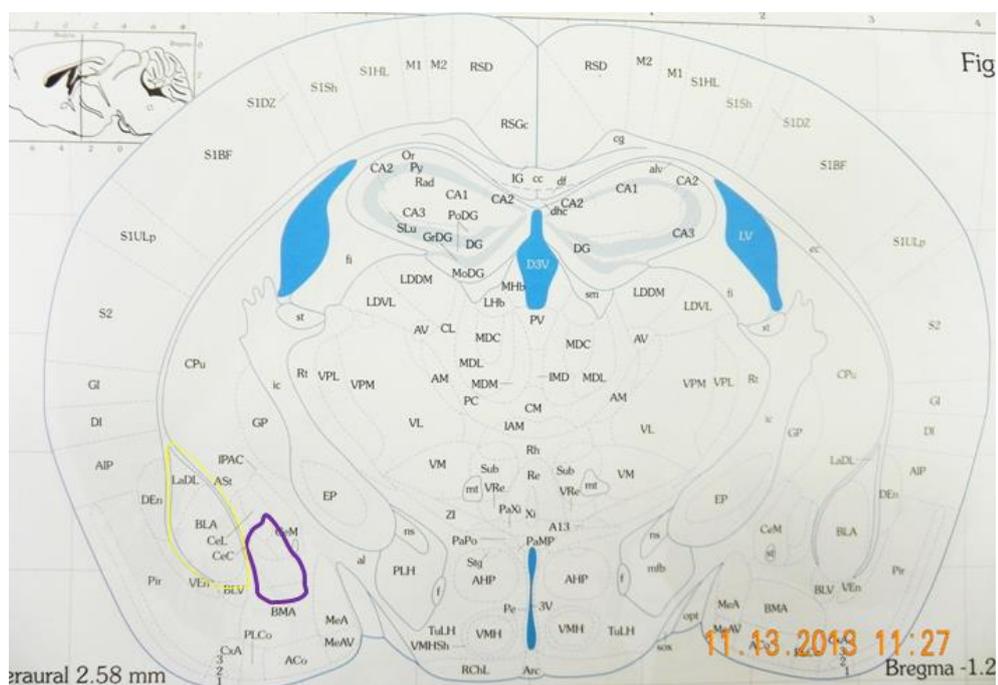


Figura 6: Corte frontal de um cérebro de roedor mostrando uma as áreas estudadas. Circulada em amarelo, encontra-se a amígdala basolateral (BLA) e circunscrita em roxo lateralmente situada à amígdala basolateral encontra-se a amígdala central (CeM).

Fonte: PAXINOS; FRANKLIN, 2012.



Figura 7 – Corte frontal de cérebro de roedor, mostrando uma das áreas estudadas, Amígdala Central (AC) em roxo, que pode ser encontrada lateralmente ao Pedúnculo Cerebral (PC) e Amígdala Basolateral (ABL) em amarelo. Nesta imagem é possível ainda observar o córtex cerebral, corpo calosso (CC), ventrículos laterais dir. e esq. (VL) e o terceiro ventrículo (3v).

Fonte: PAXINOS; FRANKLIN, 2012.

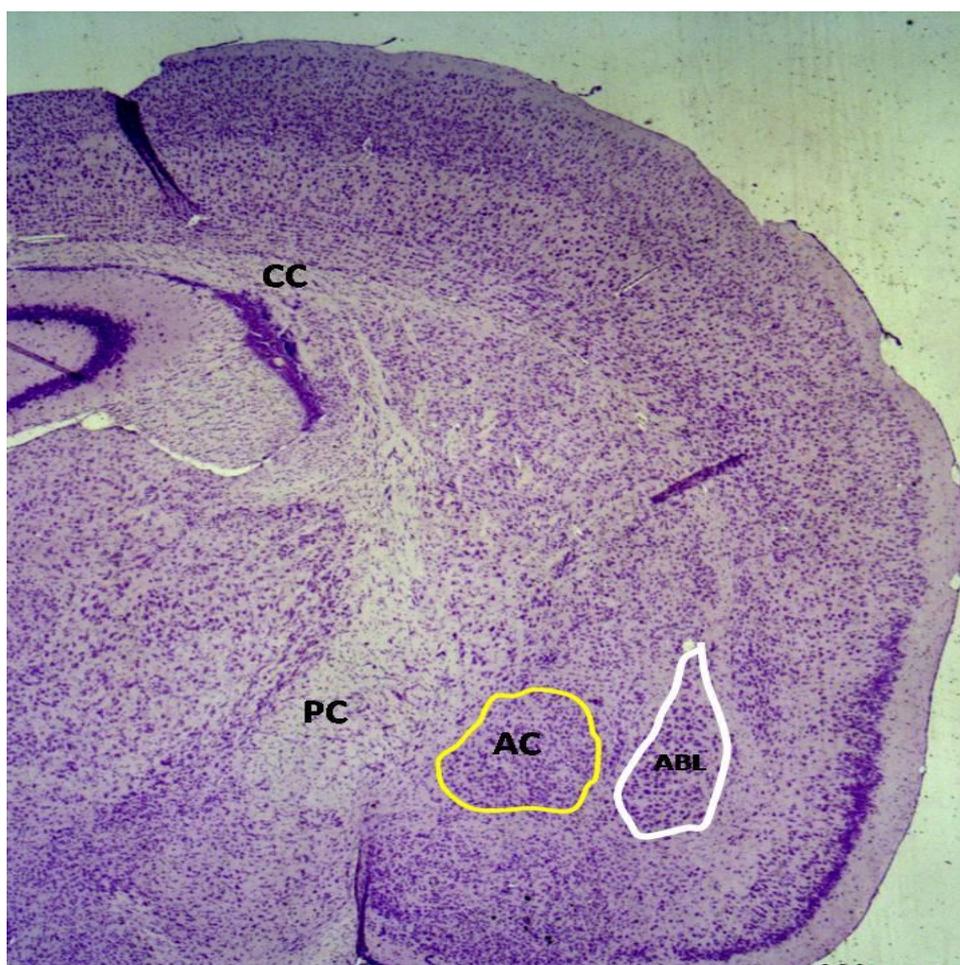


Figura 8 – Corte frontal realizado em cérebro de camundongo, corado com violeta cresil, mostrando uma das áreas estudadas, Amígdala Central (AC), que pode ser encontrada lateralmente ao Pedúnculo Cerebral (PC) e Amígdala Basolateral (ABL).

Fonte: Do autor.

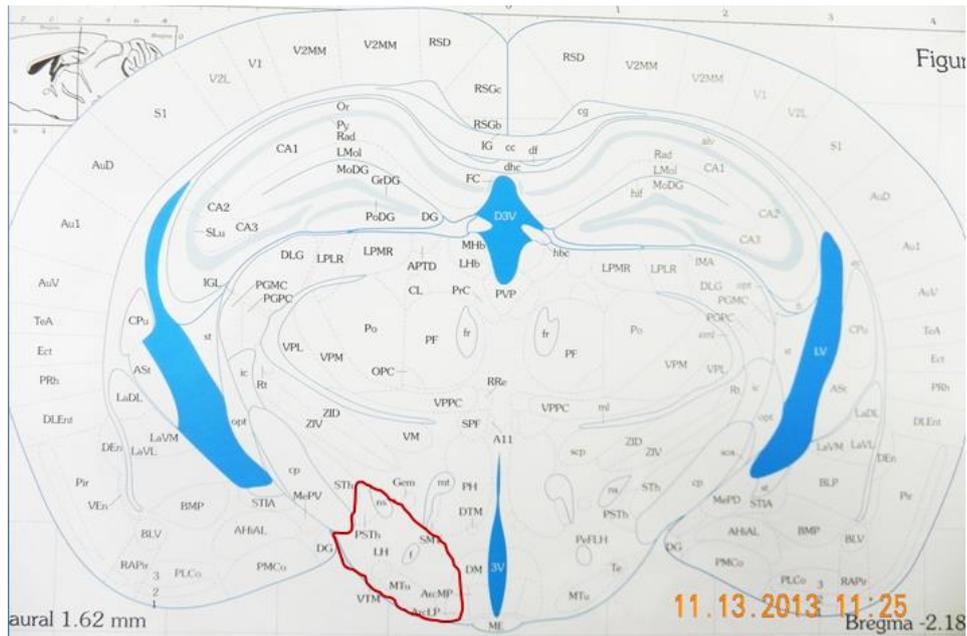


Figura 9 - Corte frontal de cérebro de roedor, mostrando uma das áreas estudadas, Hipotálamo lateral e vermelho, que pode ser encontrada lateralmente ao Pedúnculo Cerebral (PC) e terceiro ventrículo (3v) em azul.
Fonte: PAXINOS; FRANKLIN, 2012.

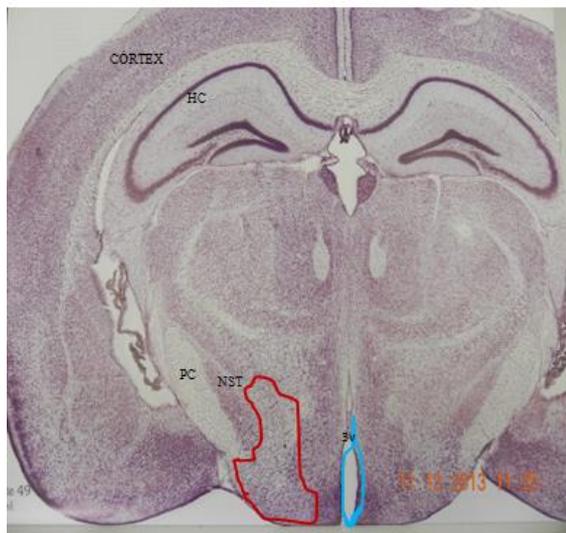


Figura 10 - Corte frontal de cérebro de roedor, mostrando uma das áreas estudadas, Hipotálamo lateral e vermelho, que pode ser encontrada lateralmente ao Pedúnculo Cerebral (PC) e terceiro ventrículo (3v) em azul.
Fonte: PAXINOS; FRANKLIN, 2012.

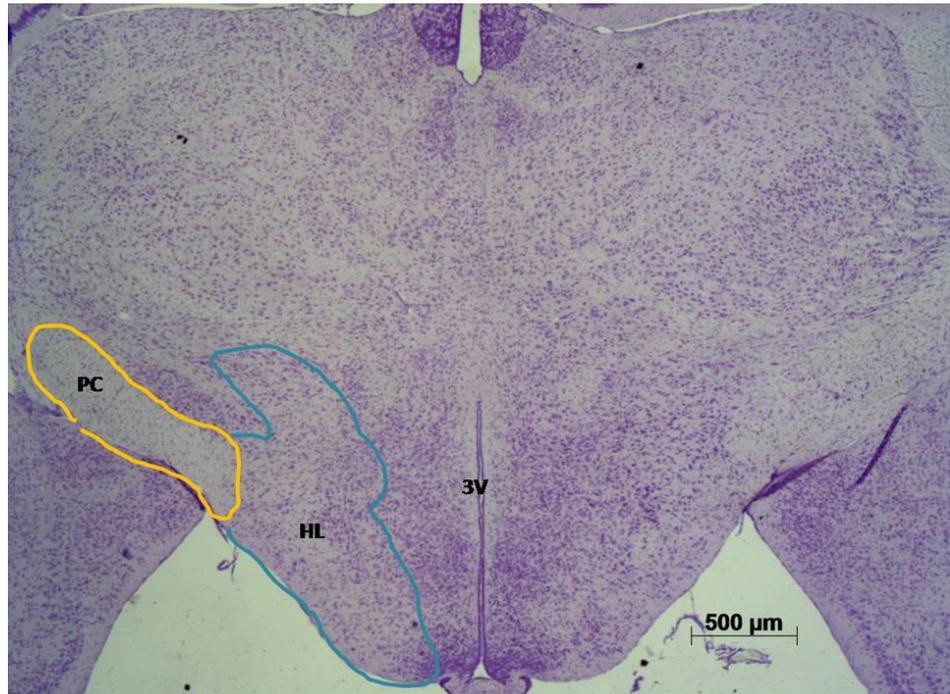


Figura 11 – Corte frontal realizado em cérebro de camundongo, corado com violeta cresil, mostrando uma das áreas estudadas, Hipotálamo Lateral (HL), que pode ser encontrada lateralmente ao Pedúnculo Cerebral (PC) e Terceiro Ventrículo (3v).
Fonte: Do autor.

5.5 PROCESSAMENTO E COLORAÇÃO

Os fragmentos foram processados seguindo-se a seqüência padronizada nos procedimentos histológicos convencionais: desidratação em álcool, diafanização em xilol e inclusão em parafina. Cada região foi emblocada e cortada com espessura de 7 μ m em micrótomo Lupe® e coradas com violeta cresil para facilitar a visualização dos Corpúsculos de Nissl dos corpos de neurônios e assim possibilitar marcar fortemente e individualmente cada célula para posterior contagem.

Cortes seriados foram realizados com a finalidade de atingir as áreas destinadas a este estudo; amígdala central e o hipotálamo lateral de camundongos machos e fêmeas.

5.6 ESTIMATIVA DA DENSIDADE DOS PERFIS DE CORPOS CELULARES DE NEURÔNIOS

Para a estimativa da densidade por área dos perfis de corpos celulares de neurônios utilizamos a metodologia de contagem aleatória simples (WEST, 1993a; WEST, 1993b; MANDARIN-DE-LACERDA, 1994; MANDARIN-DE-LACERDA, 2003; PAKKENBERG; GUNDERSEN, 1995). Neste método adquirimos 2 campos microscópicos aleatórios de 3 cortes semi seriados da área, totalizando assim seis (6) áreas analisadas por animal. Nestas áreas marcamos somente os perfis dos corpos celulares de neurônios que se encontram dispostos dentro da área teste (counting frame) e na linha de inclusão (linha verde) e excluindo as células nas linhas contínuas em vermelho (Figura 5). Desta forma, aferimos o número de células por área contada, e não o número total dessas células nos núcleos estriado e pálido.

Esta análise foi feita com o auxílio de um Sistema de Analisador de Imagens Axiovision 4 Module Interactive Mensuerement da marca Carl Zeiss® acoplado a um microscópio Axio Scope A1 da marca Carl Zeiss® e um computador. As imagens das áreas em estudo foram capturadas em lente de aumento 40x.

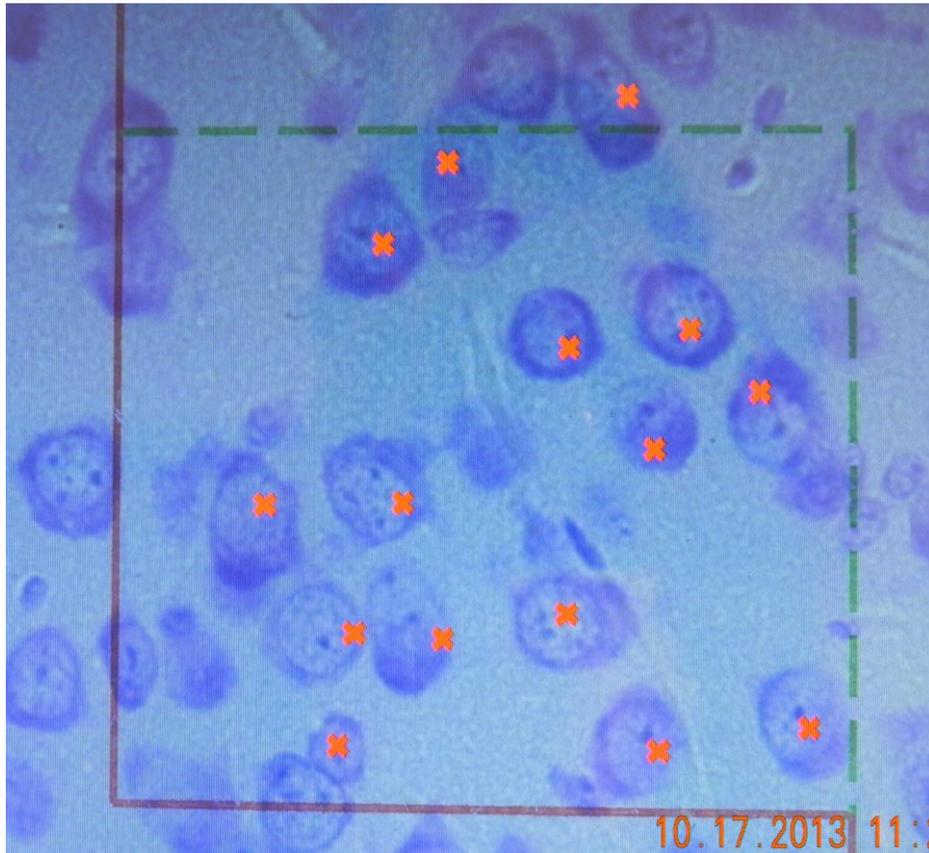


Figura 12: Imagem rpresentativa de área teste desenhado em transparência e fixado no monitor do computador para quantificação de pontos insridos somente dentro do quadrante, excluindo pontos nas linhas contínuas (vermelho).

Fonte: Departamento de Anatomia (DAnat) da Unifal – MG.

5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise quantitativa da densidade dos perfis de corpos celulares de neurônios foi utilizado o teste de variância do programa Bioestat 5.3, para verificar a presença de interações significativas entre as áreas e os grupos estudados.

Já no estudo de comportamento agressivo, a análise estatística foi realizada por meio de análise da variância (One-Way ANOVA) seguida do teste de comparação das médias de Tukey.

Valores de $p < 0,05$ foram considerados como indicativos de significância para ambas análises estatísticas e parâmetros analisados.

6 RESULTADOS

Segue abaixo os resultados referentes às análises realizadas.

6.2 ESTIMATIVA DA DENSIDADE DOS PERFIS DE CORPOS CELULARES DE NEURÔNIOS

De acordo com a quantificação de corpos celulares de neurônios realizados no hipotálamo lateral e amígdala central, podemos observar conforme os gráficos a seguir os resultados obtidos em camundongos machos e fêmeas, após a administração dos esteroides Deposteron® (Cipionato de Testosterona) e Winstrol Depot® (Stanozolol) submetidos a treinamento físico através da natação.

6.1.1 Hipotálamo lateral em machos

Os gráficos de 1 a 5 representam esquematicamente, os resultados obtidos através da análise morfométrica de corpos celulares de neurônios no hipotálamo lateral de camundongos machos.

Conforme representado nos gráfico 1, podemos observar que houve uma redução bastante significativa do número de corpos celulares de neurônios nos hipotálamos laterais (direito e esquerdo) de camundongos machos tratados com Deposteron® quando comparados aos animais controle tratados com solução salina.

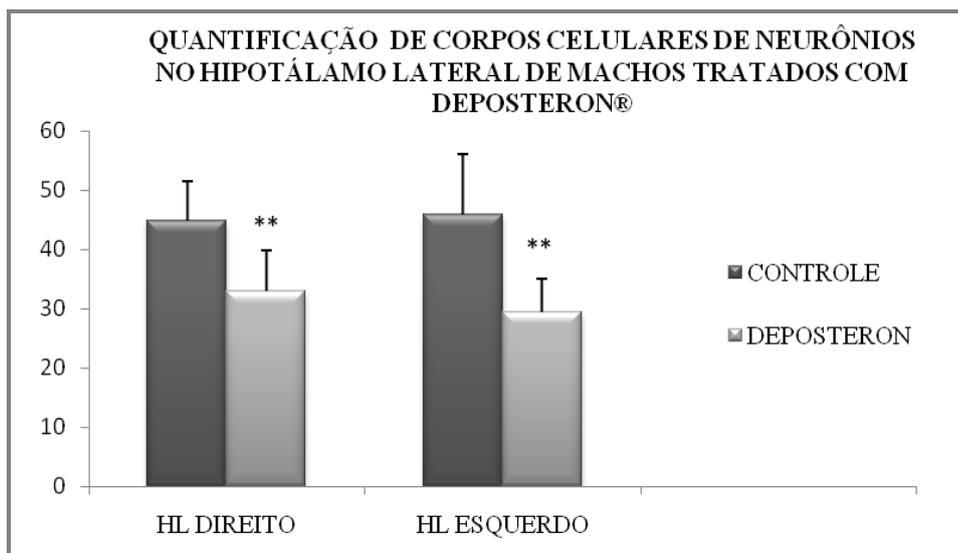


Gráfico 1 – Representação da estimativa da densidade dos perfis de corpos celulares de neurônios em machos no hipotálamo lateral (HL) direito e esquerdo, mostrando redução significativa do número de corpos celulares neuronais em ambos os hipotálamos, após o tratamento realizado com Deposteron® ($p < 0,01$).

Fonte: Do autor

Conforme representado no gráfico 2, podemos observar que houve uma redução bastante significativa do número de corpos celulares de neurônios nos hipotálamos laterais (direito e esquerdo) de camundongos machos tratados com Winstrol Depot® quando comparados aos animais controle tratados com solução salina.

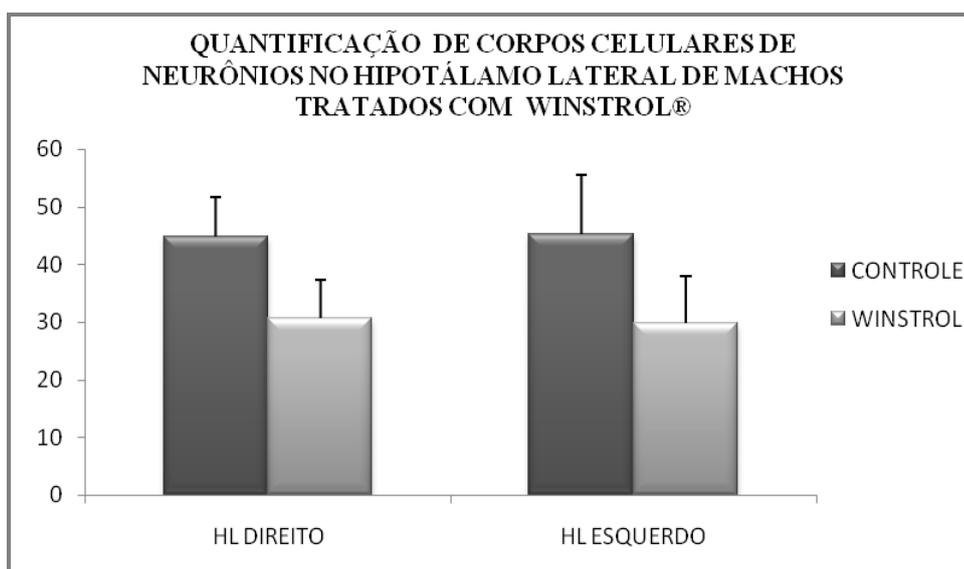


Gráfico 2 – Representação da estimativa da densidade dos perfis de corpos celulares de neurônios em machos nos hipotálamos laterais (direito e esquerdo), mostrando redução significativa do número de corpos celulares neuronais em ambos os hemisférios, após o tratamento realizado com Winstrol® ($p < 0,01$).

Fonte: Do autor

Ao compararmos os dados representados nos gráficos 1 e 2 podemos verificar que a administração de tais esteroides, em doses elevadas podem levar a redução significativa do número de corpos celulares de neurônios.

O gráfico 3 apresenta um comparativo entre machos tratados com Deposteron® e Winstrol®, demonstrando que houve uma redução significativa e equivalente na densidade de corpos celulares de neurônios destes animais tanto no hipotálamo lateral direito quanto no esquerdo, mostrando ainda que ambos os esteroides (Deposteron® e Winstrol Depot®), podem provocar danos no hipotálamo lateral de camundongos machos em proporções equiparadas, quando comparadas ao controle.

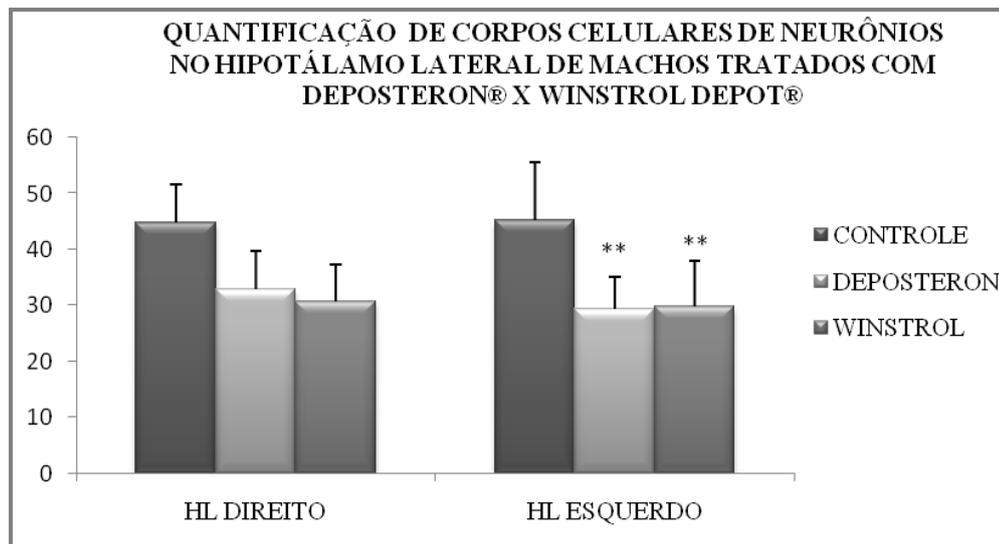


Gráfico 3 – Comparativo da estimativa da densidade dos perfis de corpos celulares neurônios em machos nos hipotálamos laterais (direito e esquerdo), mostrando redução significativa do número de corpos celulares neuronais em ambos os hemisférios, após tratamento realizado com Deposteron® e Winstrol Depot® ($p < 0,01$).

Fonte: Do autor.

O gráfico 4, mostra a quantificação neuronal de duas áreas (A1 e A2), onde a área 1 representa uma área mais lateral do hipotálamo lateral, enquanto que a área 2, mostra uma área mais central do hipotálamo lateral. Ambas as áreas (A1 e A2), tiveram redução significativa da densidade de corpos celulares de neurônios nos dois hipotálamos, direito e esquerdo, quando comparados ao controle.

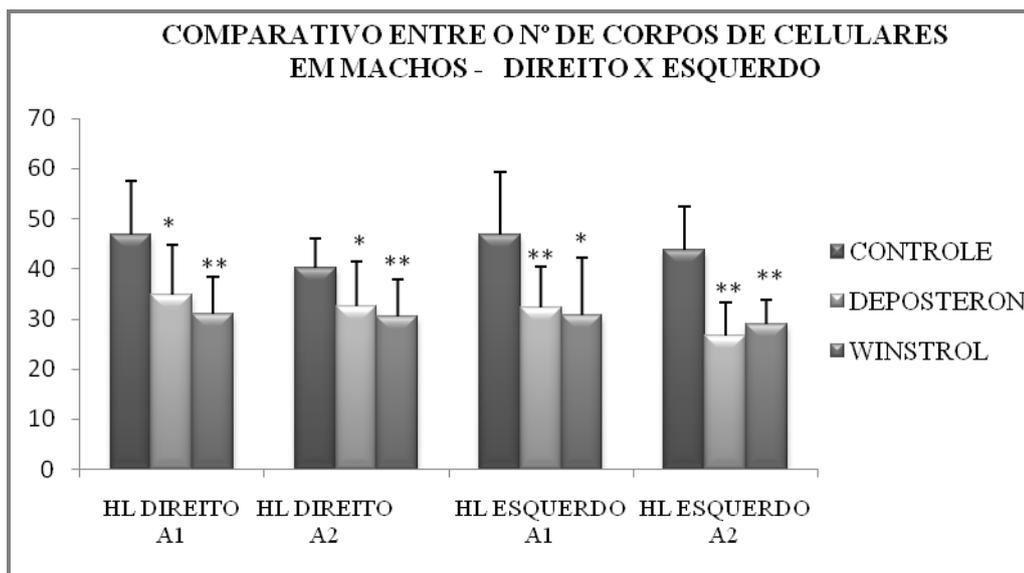


GRÁFICO 4 - Comparativo da contagem de neurônios em machos nos dois hipotálamos laterais (direito e esquerdo), em duas áreas diferentes (lateral e central), mostrando redução significativa do número de corpos celulares neuronais em ambos os hemisférios e áreas, após o tratamento realizado com Deposteron® e Winstrol® ($p < 0,05$).

Fonte: Do autor

O tratamento realizado com Deposteron® promoveu uma redução maior na densidade de corpos celulares de neurônios do hipotálamo esquerdo, enquanto que o tratamento realizado com Winstrol Depot® gerou uma redução maior destes corpos celulares de neurônios no hipotálamo direito. Entretanto, é possível verificar que essa redução foi significativa para as duas áreas analisadas (1 e 2) e para os dois hipotálamos (direito e esquerdo), podemos então dizer que ambos os tratamentos (Deposteron® e Winstrol Depot®), foram equivalentes, quanto a redução de corpos celulares neuronais.

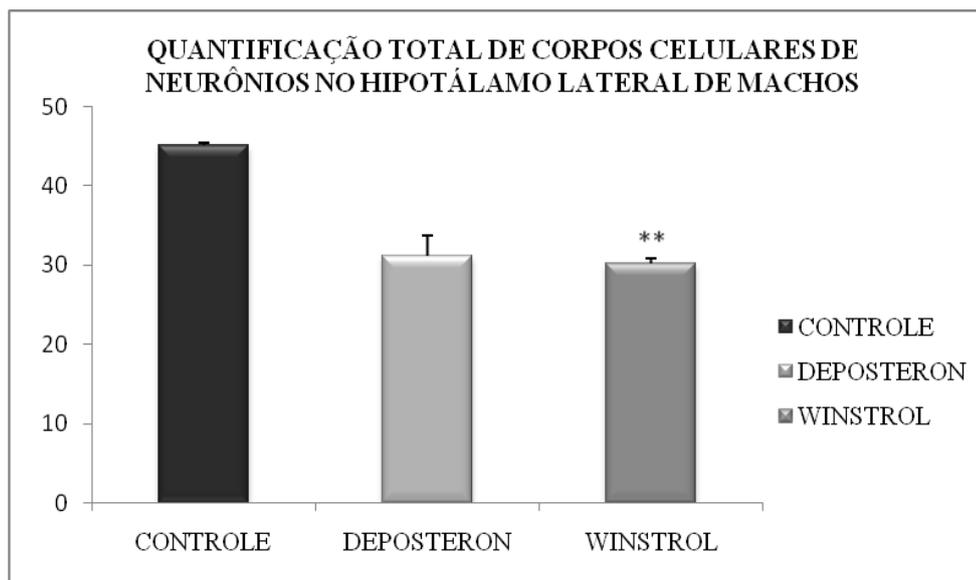


Gráfico 5 – Gráfico comparativo mostrando redução significativa da densidade dos perfis de corpos celulares neurônios no hipotálamo lateral em machos tratados com Deposteron® e Winstrol Depot® ($p < 0,01$).

Fonte: Do autor

O gráfico 5 (cinco), apresenta a confirmação da redução de corpos celulares neuronais no hipotálamo lateral de machos tratados com Deposteron® e Winstrol Depot® de forma equivalente.

6.1.2 Amígdala Central em machos

Os gráficos de 6 a 8 representam os resultados obtidos através da análise morfométrica de corpos celulares de neurônios na amígdala central de camundongos machos.

Os gráficos 6 e 7 mostram que não houve redução neuronal significativa no tratamento realizado com Deposteron® nas amígdalas direita e esquerda. Já nos machos tratados com Winstrol®, houve uma redução significativa no número de corpos celulares neuronais na amígdala central direita, o mesmo não ocorreu com a amígdala esquerda, que não obteve uma contagem neuronal significativa em relação aos animais controles.

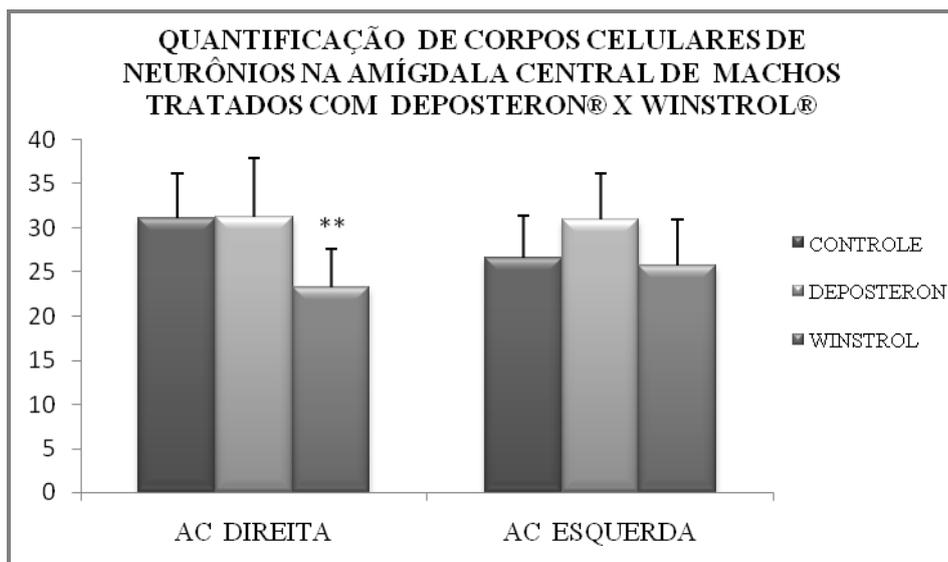


Gráfico 6 – Comparativo da quantificação neuronal na amígdala central em machos nos hemisférios direito e esquerdo, mostrando que houve redução estatística significativa na densidade de corpos celulares de neurônios somente no hemisfério direito, após o tratamento realizado com Winstrol Depot® ($p < 0,01$), resultados não-significativo no hemisfério esquerdo de animais tratados com Winstrol Depot® e Deposteron® (dir e qsq.) ($p > 0,05$).

Fonte: Do autor

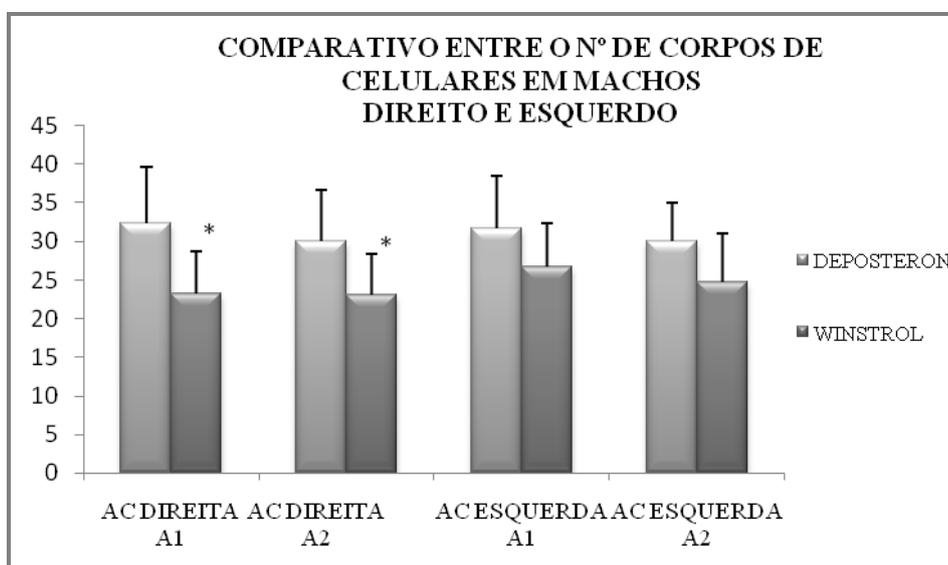


Gráfico 7 – Comparativo da densidade dos perfis de corpos celulares de neurônios em machos nos dois hemisférios da amígdala central (direito e esquerdo), em duas áreas distintas (lateral e central), mostrando que houve redução estatística significativa somente no hemisfério direito dos machos tratados com Winstrol Depot® ($p < 0,05$). Não houve alteração significativa para os animais tratados com Deposteron® ($p > 0,05$).

Fonte: Do autor

Podemos observar nos gráficos 6 e 7 que a única alteração significativa foi a redução de corpos celulares neuronais na amígdala central direita tanto na área 1 quanto na 2 dos machos tratados com Winstrol®, demonstrando que houve portanto uma diferença quantitativa entre as amígdalas de ambos os lados. Quanto aos animais tratados com Deposteron®, não houve alteração significativa quanto ao número de neurônios reduzidos nas amígdalas central direita e esquerda e nas áreas 1 e 2.

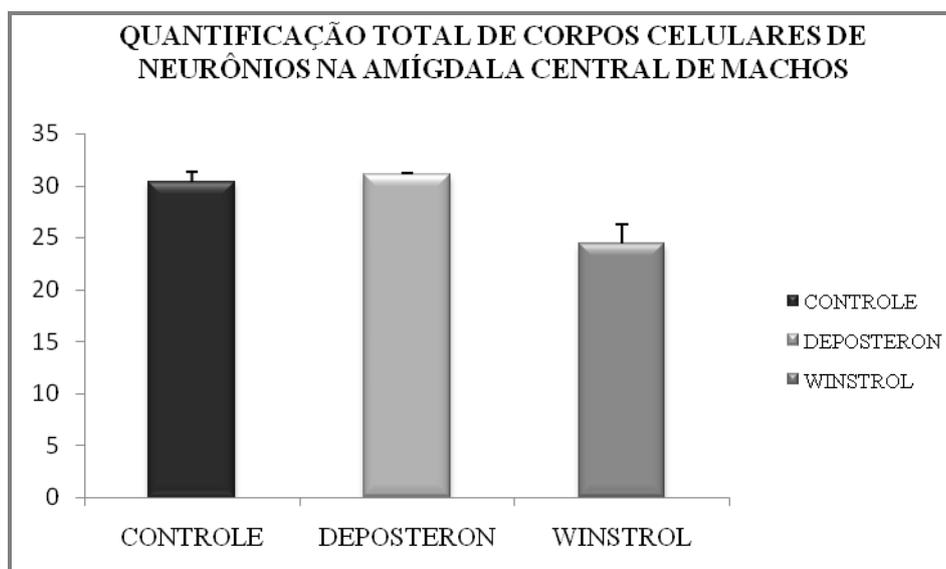


Gráfico 8 – Comparativo da densidade dos perfis de corpos celulares de neurônios entre os EAA Deposteron® e Winstrol Depot® mostrando que não houve redução quantitativa significativa na amígdala central de machos tratados com Deposteron® e Winstrol Depot® ($p>0,05$).

Fonte: Do autor

O gráfico 8 representa todos os resultados quantitativos referentes a estimativa da densidade de corpos celulares de neurônios na amígdala central de machos tratados com Deposteron® e Winstrol Depot®, indicando que não houve alteração significativa.

6.1.3 Hipotálamo lateral em fêmeas

Os gráficos de 9 a 11 representam os resultados obtidos através da análise morfométrica de corpos celulares de neurônios na amígdala central e hipotálamo lateral de camundongos fêmeas.

O gráfico 9, mostra que os tratamentos com Deposteron® e Winstrol Depot® geram redução neuronal bastante significativa no hipotálamo lateral (HL) de fêmeas ($p < 0,01$), bem como no HL esquerdo ($p < 0,05$).

O tratamento realizado com Deposteron® promoveu uma redução maior na densidade de corpos celulares neuronais no HL direito ($p < 0,001$) comparado com o HL ($p < 0,05$) e em relação ao tratamento realizado com Winstrol Depot® no HL direito ($p < 0,01$) e esquerdo ($p < 0,05$).

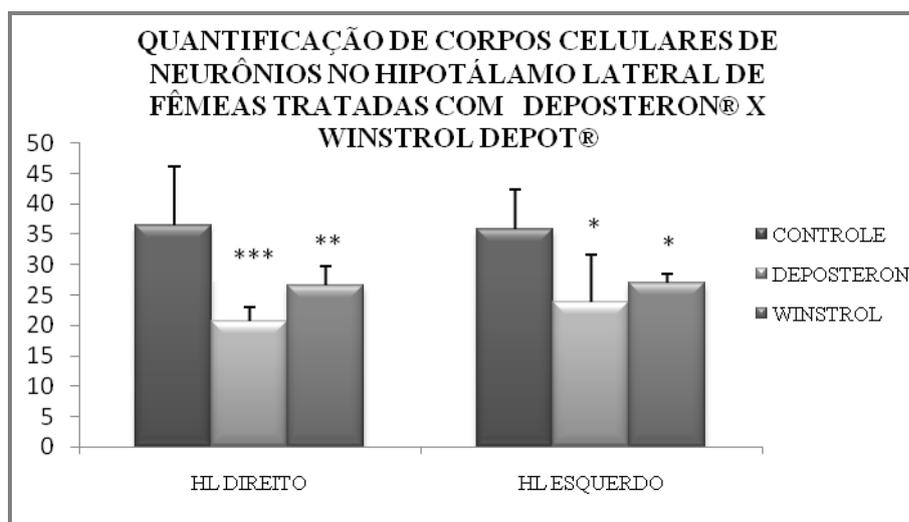


GRÁFICO 9 - Quantificação de neurônios em fêmeas no HL direito e esquerdo, mostrando que houve alteração significativa no número de corpos celulares neuronais no HL direito ($p < 0,01$) tratados com Deposteron® e Winstrol Depot®, observa-se também uma redução significativa no número de corpos celulares neuronais no HL esquerdo ($p < 0,05$), após tratamento realizado com Deposteron® e Winstrol®.

Fonte: Do autor

No gráfico 10, podemos observar a quantificação neuronal em fêmeas tratadas com Deposteron® e Winstrol Depot®, mostrando que houve alteração significativa entre os HL e as áreas quantificadas.

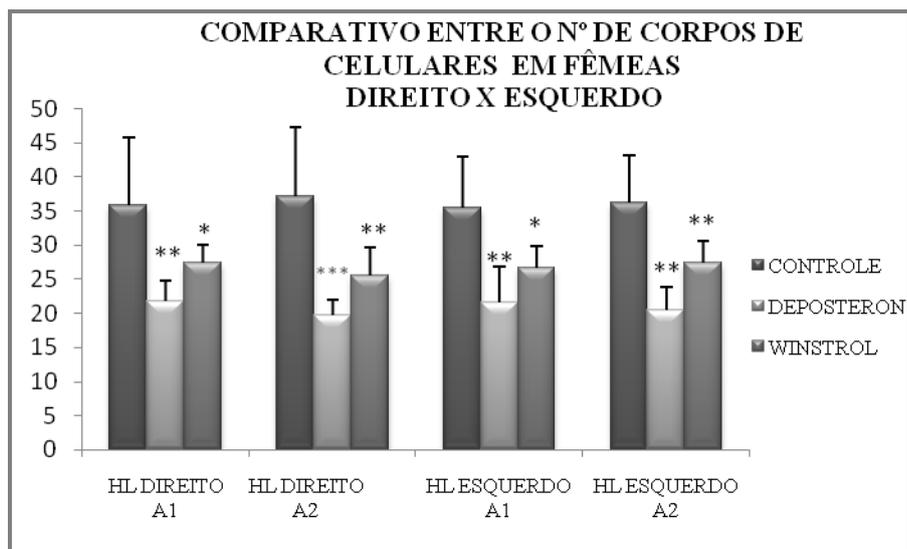


GRÁFICO 10 – Comparação de fêmeas tratadas com Deposteron e Winstrol, em relação aos HL direito e esquerdo e as áreas 1 e 2 (lateral e central respectivamente), mostrando redução significativa nos 2 hipotálamos e também entre as áreas analisadas ($p < 0,05$).

Fonte: Do autor

O gráfico 11, mostra a quantificação total gerada pelo tratamento de fêmeas realizadas com Deposteron® e Winstrol Depot®, mostrando que os mesmos promovem redução de corpos celulares de neurônios totais no hipotálamo lateral dessas fêmeas. Sendo que o tratamento realizado com Deposteron® promoveu uma redução maior no número de corpos celulares de neurônios em camundongos fêmeas ($p < 0,01$), quando comparado com Winstrol® ($p < 0,05$).

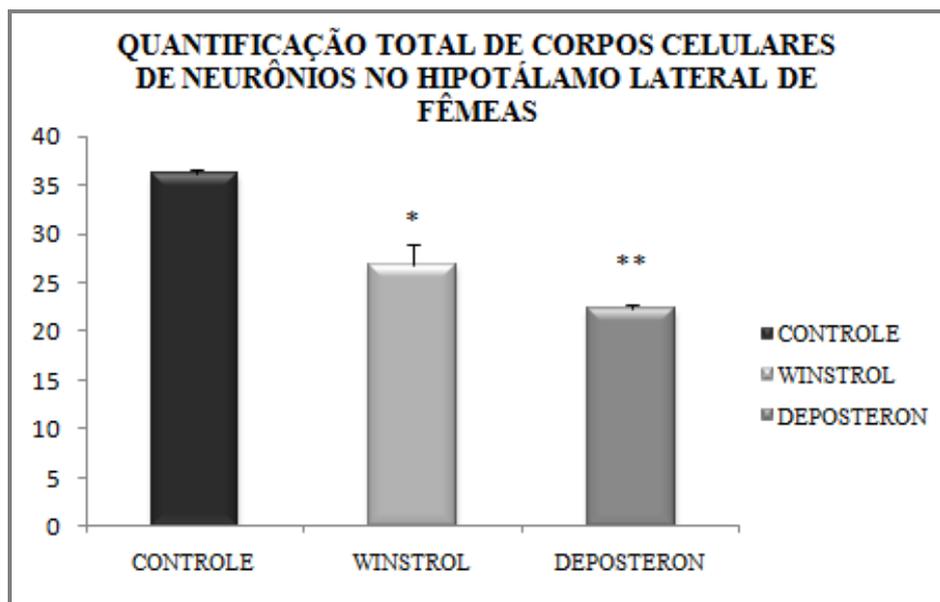


GRÁFICO 11 – Quantificação neuronal total em fêmeas tratadas com Deposteron® e Winstrol®, mostrando a redução significativa de corpos celulares neuronais no hipotálamo lateral ($p < 0,05$).

Fonte: Do autor

6.1.4 Amígdala central em fêmeas

Os gráficos de 12 a 14, representam os resultados obtidos através da análise morfométrica de corpos celulares de neurônios na amígdala central (AC) de camundongos fêmeas.

Nos gráficos 12 e 13 podemos observar a quantificação neuronal em fêmeas tratadas com Deposteron® e Winstrol Depot®, mostrando que houve alteração significativa entre as AC direita e esquerda. No entanto, podemos observar que não houve alteração significativa na quantificação neuronal de fêmeas tratadas com Deposteron® e Winstrol Depot® na área 2 (central).

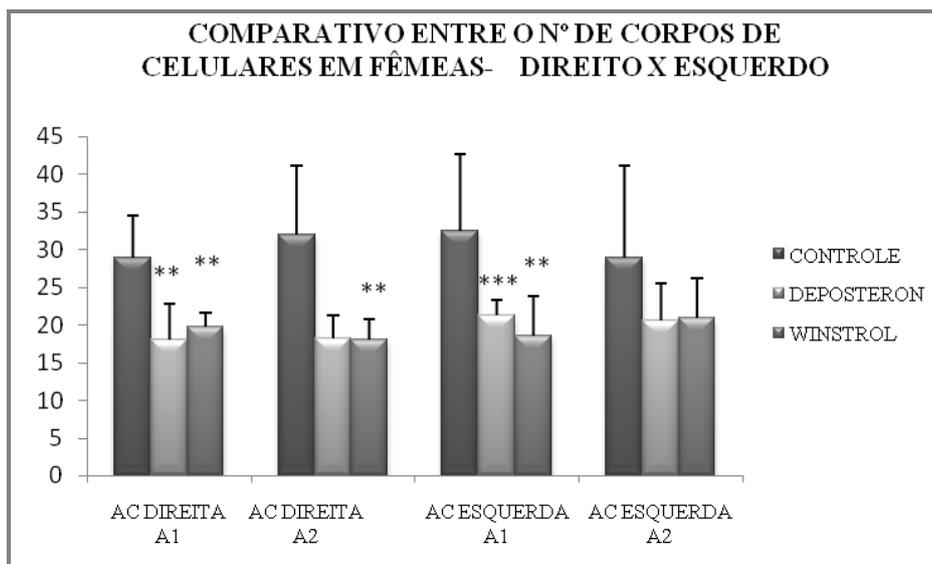


GRÁFICO 13 - Comparação de fêmeas tratadas com Deposteron® e Winstrol®, em relação as AC direita e esquerda e as áreas 1 e 2 (lateral e central respectivamente), mostrando redução significativa em ambos os lados ($p < 0,05$) e áreas com exceção da área 2, tanto para Deposteron® quanto Winstrol®.

Fonte: Do autor

No gráfico 14 observa-se a redução neuronal significativa na amígdala central de fêmeas tratadas com Deposteron® e Winstrol Depot® ($p < 0,01$). Mostrando que os tratamentos com ambos os esteroides, promoveram redução de corpos celulares neuronais equivalentes quando comparados entre si.

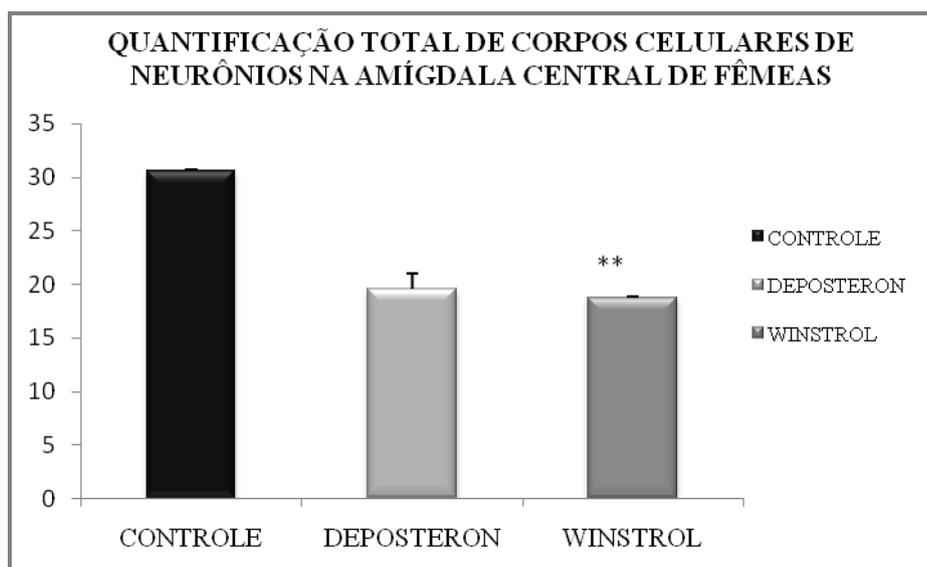


GRÁFICO 14 - Quantificação total de neurônios em fêmeas tratadas com Deposteron® e Winstrol®, mostrando que houve uma redução significativa de corpos celulares neuronais na amígdala central de fêmeas tratadas com ambos os esteróides ($p < 0,01$).

Fonte: Do autor

Os gráficos de 15 a 18, representam um comparativo geral da quantificação de corpos celulares de neurônios, entre machos e fêmeas, entre os tratamentos realizados (Deposteron® e Winstrol Depot®) e entre as áreas analisadas (Hipotálamo Lateral e Amígdala Central), através do teste de variância foi verificada a presença de interações significativas entre as áreas, grupos e os lados (direito e esquerdo), diferenças e/ou igualdades entre as médias avaliadas.

Os gráficos 15 e 16 demonstram que o tratamento realizado com Deposteron® e Winstrol Depot®, promoveu alteração significativa na quantificação de corpos celulares de neurônios no hipotálamo lateral de machos e fêmeas.

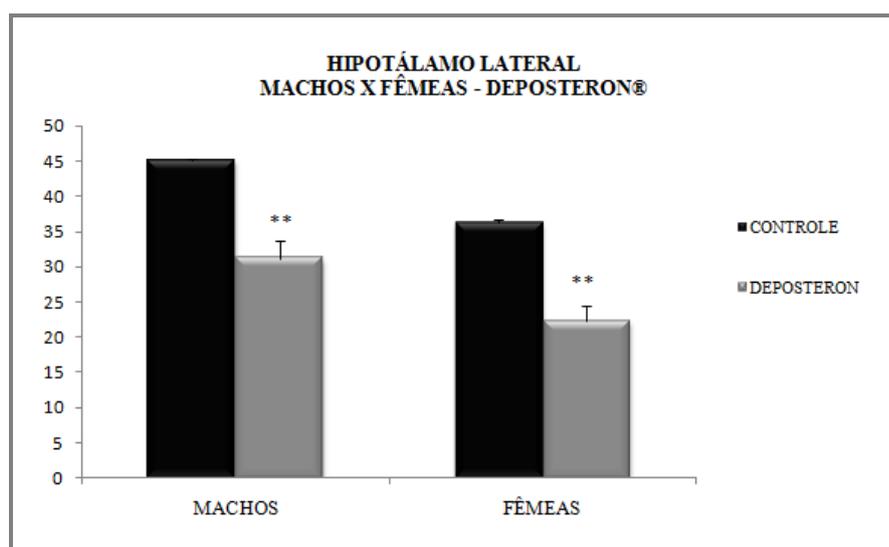


GRÁFICO 15 - Machos e fêmeas mostrando redução significativa na quantificação de corpos celulares de neurônios no hipotálamo lateral, após o tratamento realizado com Deposteron® quando comparados com o controle ($p < 0,01$).

Fonte: Do autor

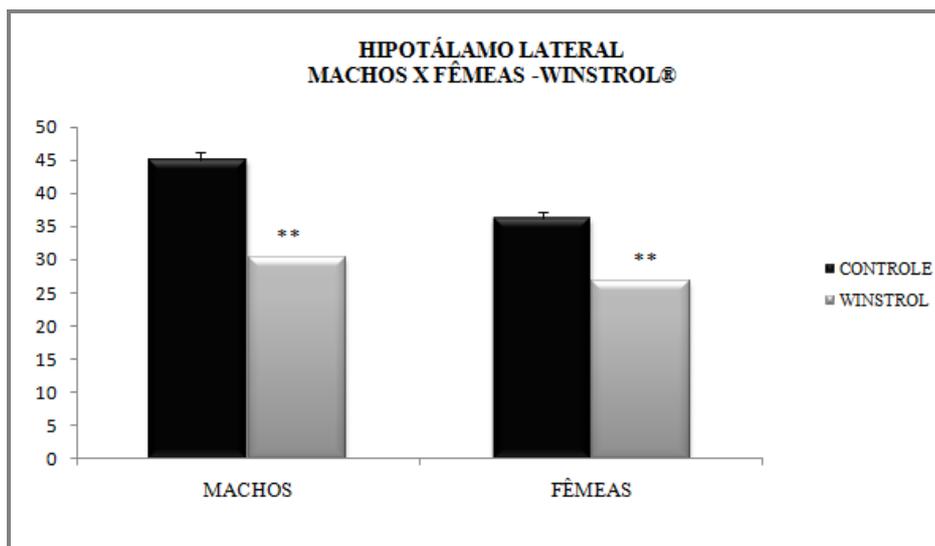


GRÁFICO 16 - Machos mostrando redução bastante significativa na quantificação de corpos celulares de neurônios no hipotálamo lateral, após o tratamento realizado com Winstrol® ($p < 0,01$), e fêmeas apresentando em quantidade menor, significativa redução de corpos celulares de neurônios no hipotálamo lateral ($p < 0,05$), quando comparados com o controle.

Fonte: Do autor

Os gráficos 17 e 18 demonstram que o tratamento realizado com Deposteron® e Winstrol Depot®, não provocaram alteração significativa na quantificação de corpos celulares de neurônios na amígdala central.

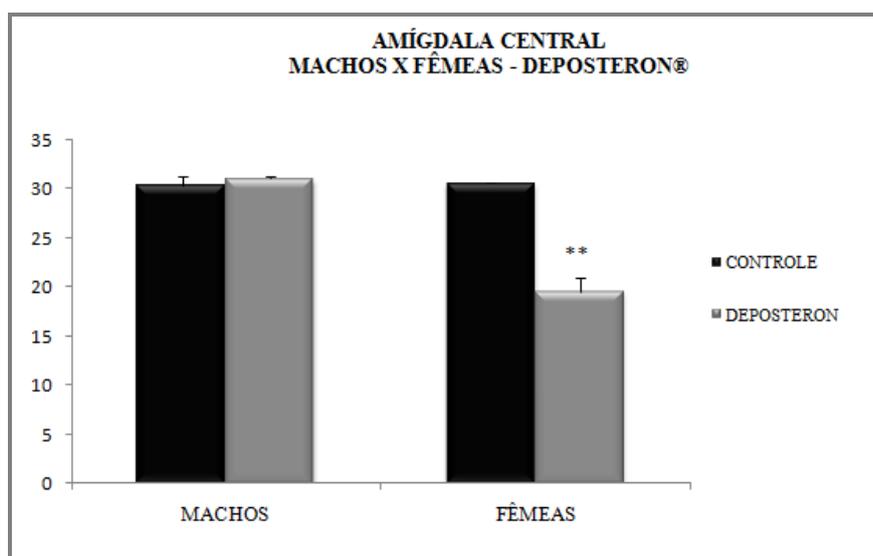


GRÁFICO 17 - Representação gráfica comparativa entre machos e fêmeas tratados com Deposteron®, mostrando que não houve alteração significativa na quantificação de corpos celulares de neurônios na amígdala central dos machos, ($p > 0,05$), enquanto que o mesmo tratamento apresentou redução significativa de corpos celulares de neurônios na amígdala central ($p < 0,01$), quando comparados com o controle.

Fonte: Do autor

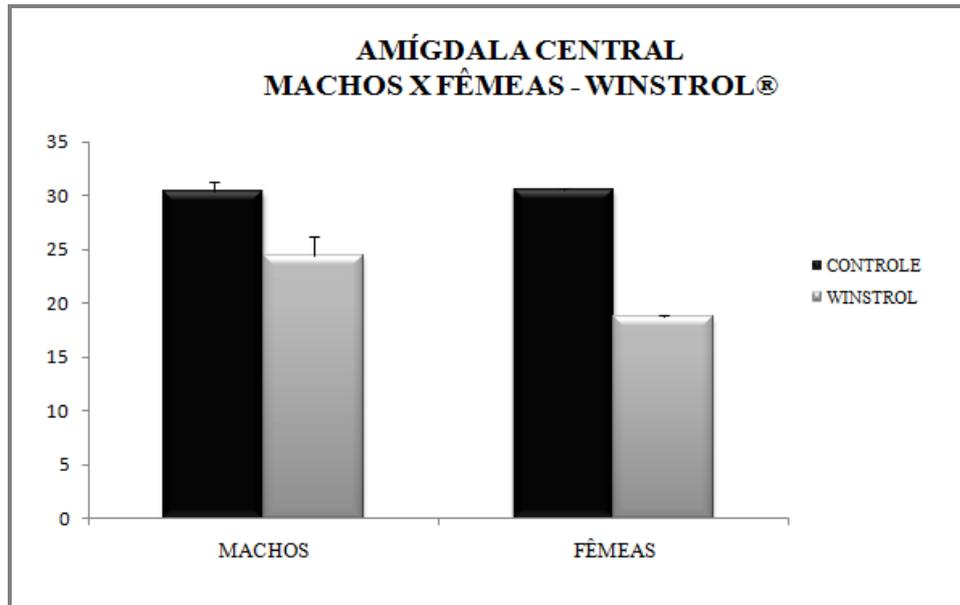


GRÁFICO 18 - Representação gráfica comparativa entre machos e fêmeas tratados com Winstrol®, mostrando que não houve alteração significativa na quantificação de corpos celulares de neurônios na amígdala central dos machos, ($p > 0,05$), enquanto que o mesmo tratamento apresentou redução significativa de corpos celulares de neurônios na amígdala central ($p < 0,01$), quando comparados com o controle.

Fonte: Do autor

Os resultados apontam que o tratamento realizado tanto com Deposteron® quanto com Winstrol Depot® promove redução significativa e equivalente tanto em machos quanto em fêmeas. Já na quantificação de corpos celulares de neurônios, somente a amígdala central de fêmeas tratadas com o Deposteron® e Winstrol Depot®, tiveram redução significativa no número de corpos celulares de neurônios.

6.1 ANÁLISE DA AGRESSIVIDADE

Os gráficos de 19 a 22 representam os resultados referentes às análises comportamentais realizadas através do Paradigma Residente-Intruso.

Os gráficos 19 e 20 representam os dados referentes aos resultados encontrados após tratamento realizado com Deposteron® e Winstrol® em camundongos fêmeas.

Podemos observar pelo gráfico 19, que as fêmeas residentes tratadas com Deposteron® e Winstrol Depot®, levaram menos tempo para iniciar o primeiro ataque às

fêmeas intrusas em relação às fêmeas controle, entretanto, esse resultado não se mostrou estatisticamente significativo.

Todos os animais residentes tratados com substâncias anabolizantes, neste estudo apresentaram comportamento bastante agressivo em relação aos animais intrusos.

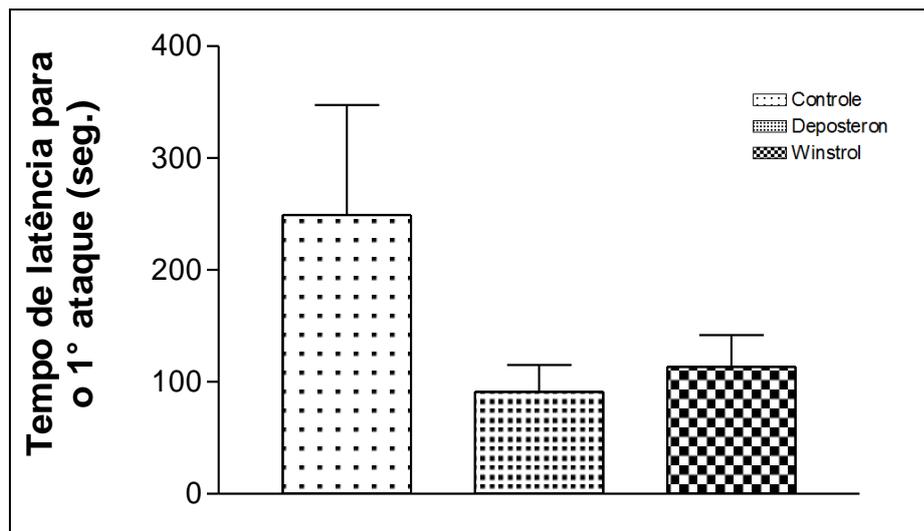


Gráfico 19 – Representação gráfica comparativa do tempo de latência para o 1º ataque em camundongos fêmeas, tratados com Deposteron® e Winstrol®, mostrando que não houve resultado estatístico significativo quando comparado aos animais controle ($p>0,05$).

Fonte: Do autor

O gráfico 20, mostra o número total de ataques realizados pelas fêmeas tratadas com Deposteron® e Winstrol Depot®, mostrando que esse resultado não se mostrou estatisticamente significativo.

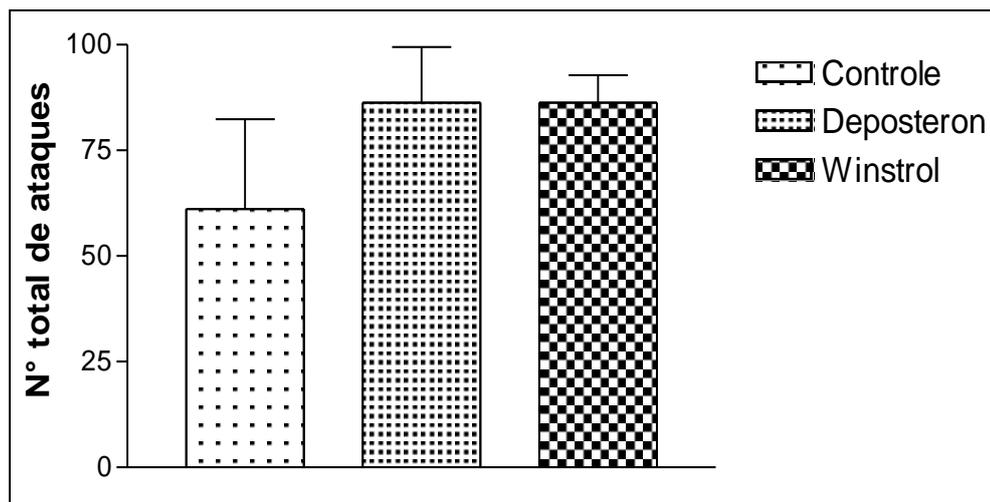


Gráfico 20 – Representação gráfica comparativa do número total de ataques realizados por camundongos fêmeas, tratados com Deposteron® e Winstrol®, mostrando que não houve resultado estatístico significativo quando comparado aos animais controle ($p>0,05$).

Fonte: Do autor

Conforme os resultados obtidos através da análise comportamental em fêmeas tratadas com Deposteron® e Winstrol Depot®, os animais residentes tratados apesar de terem atacado os animais intrusos não-tratados por inúmeras vezes, sem que os mesmos reagissem a esses ataques, quando comparados aos animais controle, não apresentou resultados estatisticamente significativos.

Todos os animais tratados tanto com Deposteron® e Winstrol®, apresentaram comportamento muito agressivo em relação aos animais intrusos, entretanto, o número de ataques não foi maior devido ao mecanismo de defesa apresentado pelos animais intrusos, que apoiaram suas patas na grade que fechava a gaiola, onde o teste foi realizado, assim o animal ficou suspenso neste aparato, de forma que o animal residente não conseguia alcançá-lo para atacá-lo.

Todos os animais intrusos não-tratados ficaram gravemente feridos, devido à agressividade das mordidas recebidas pelos animais residentes, entretanto, nenhum deles veio a óbito durante o experimento.

O Gráfico 21, representa os resultados onde machos residentes tratados com Deposteron® e Winstrol Depot®, levaram menos tempo para iniciar o primeiro ataque aos animais intrusos em relação ao controle, entretanto, esse resultado não se mostrou estatisticamente significativo. Todos os animais residentes tratados com substâncias anabolizantes, neste estudo apresentaram comportamento bastante agressivo em relação aos animais intrusos.

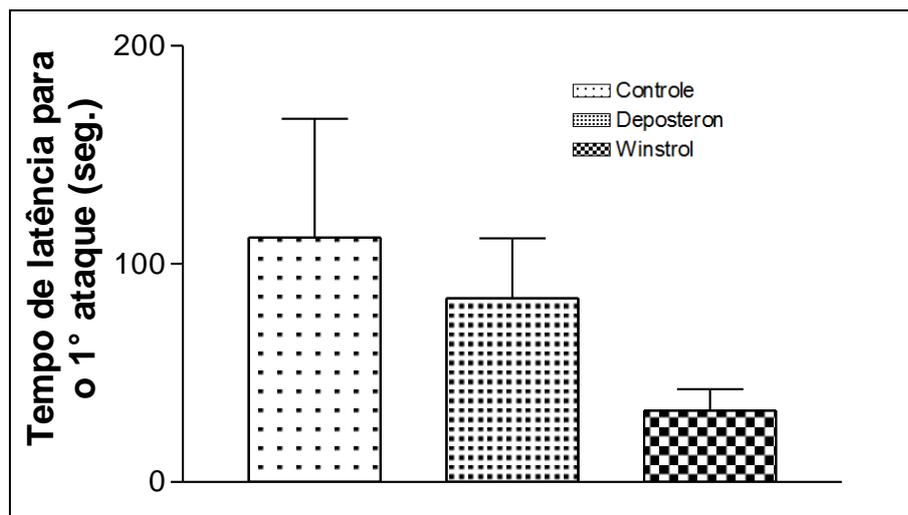


Gráfico 21 – Representação gráfica comparativa do tempo de latência para o 1º ataque em camundongos machos, tratados com Deposteron® e Winstrol®, mostrando que não houve resultado estatístico significativo quando comparado aos animais controle ($p > 0,05$).

Fonte: Do autor

O Gráfico 22 mostra que o número de ataque dos animais machos residentes contra os machos intrusos, não se mostrou estatisticamente significativos.

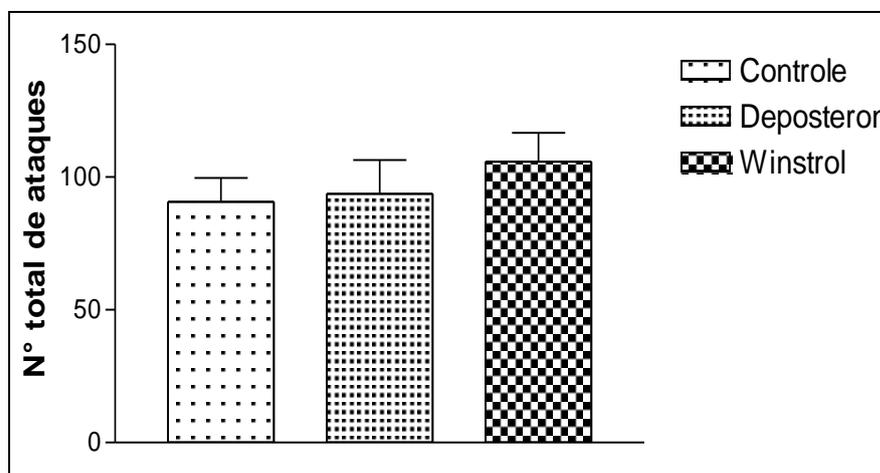


Gráfico 22 – Representação gráfica comparativa do número total de ataques realizados por camundongos machos, tratados com Deposteron® e Winstrol®, mostrando que não houve resultado estatístico significativo quando comparado aos animais controle ($p > 0,05$).

Fonte: Do autor

Ao analisarmos os resultados referentes às análises quantitativas, é possível verificar que a quantidade de neurônios é maior no hipotálamo direito que no hipotálamo esquerdo, tanto dos animais tratados com Deposteron® quanto com Winstrol Depot®. Esse dimorfismo pode ocorrer devido a uma variação anatômica, hipótese proposta em um trabalho que afirma que a testosterona diminui o desenvolvimento do hemisfério cerebral esquerdo e permite o crescimento compensatório do hemisfério cerebral direito a fim de produzir uma mudança gradual para normalizar esta possível assimetria cerebral (GESCHWIND e LEVITSKY, 1968, GESCHWIND e BAHAN, 1982, GESCHWIND e GALABURDA, 1985).

Entretanto, Galaburda et al., 1987, na tentativa de explicarem as diferenças assimétricas no cérebro, afirmam que se a testosterona tem um efeito na modificação de assimetria do cérebro, não parece fazê-lo, retardando um lado e permitindo que o crescimento do outro, mas sim através da promoção do crescimento do hemisfério menor. Ambos os dados confirmam a hipótese de que existe uma diferença anatômica entre os hemisférios cerebrais.

De acordo com os dados encontrados na análise de densidade de corpos celulares de neurônios no hipotálamo lateral de machos, podemos dizer que a administração dos esteroides anabolizantes Deposteron® e Winstrol Depot®, em doses elevadas podem gerar redução da densidade de corpos celulares de neurônios, o que indica que o uso destes fármacos pode levar a consequências danosas ao cérebro de camundongos machos, tal como a morte neuronal, que podem prejudicar as áreas afetadas de acordo com a função a que se destinam. Esses resultados corroboram com os dados apresentados em um trabalho realizado por Damião et al., 2012, onde o tratamento de camundongos com esteroides anabolizantes levou a uma diminuição significativa na quantidade de corpos celulares de neurônios no córtex cerebral destes animais, quando comparados aos animais do grupo controle, que foram tratados com solução salina.

Outro estudo realizado também confirma os resultados apresentados neste trabalho, onde foram comparados os efeitos entre testosterona, nandrolona stanozolol, e gestrinona sobre a morte neuronal excitotóxica induzida por N-metil-D-aspartato (NMDA) em culturas primárias de células do córtex de ratos, os dados encontrados sugerem que altas doses desses esteroides aumentam a vulnerabilidade neuronal para que haja um aumento de citotoxicidade celular neuronal e isso pode, portanto, facilitar a morte neuronal (ORLANDO et. al., 2007).

Uma das áreas quantificadas neste trabalho foi o hipotálamo lateral, sendo uma estrutura límbica relacionada ao comportamento de raiva e agressividade (BEAR et. al.,

2002). Portanto a redução da quantidade de corpos celulares de neurônios pode alterar funções relacionadas a esta estrutura.

Quanto às diferenças quantitativas entre os lados direito e esquerdo encontradas neste estudo, podemos atribuir às, no que se referem à amígdala central, devido a uma variação anatômica entre os dois hemisférios, conforme estudos realizados anteriormente (GESCHWIND; LEVITSKY, 1968; GESCHWIND; BAHAN, 1982; GESCHWIND; GALABURDA, 1985; GESCHWIND).

O tratamento realizado com Winstrol Depot® em machos, apesar de não ter se mostrado significativo, causou redução da densidade de corpos celulares neuronais na amígdala central. Esta estrutura está relacionada ao comportamento agressivo e medo (BAHAR et al., 2003). Uma vez detectado o estímulo emocional, a amígdala pode determinar o processamentos deste estímulo, visto que suas amplas conexões com áreas corticais, envolvidas com funções cognitivas de atenção, percepção e memória explícita (MCGAUGH, 2000; PHELPS; LEDOUX, 2005) e a alteração destes circuitos podem levar a distúrbios de ansiedade que são comumente associados a amígdala, tais como: estresse pós-traumático (ACKERMAN et al., 1998; RAUCH, SHIN e PHELPS, 2006), distúrbios do pânico (COPLAN; LYDIARD, 1998; GORMAN et al., 2000; DOMSHKE et al., 2006), fobias sociais (AMARAL, 2002; BIRBAUER et al., 1998), distúrbio obsessivo-compulsivo (PUJOL et al., 2004; SZESKO et al., 2006). Portanto, alterações na densidade destes neurônios podem alterar essas funções.

Os resultados apontam que o tratamento realizado tanto com Deposteron® quanto com Winstrol Depot® promove redução significativa equivalente tanto em machos quanto em fêmeas. Já na quantificação de corpos celulares de neurônios, somente a amígdala central de fêmeas tratadas com o Deposteron® e Winstrol Depot®, tiveram redução significativa no número de corpos celulares de neurônios, conforme resultados propostos por Damião et al., 2012; Orlando et. al., 2007.

Já, o tratamento realizado com Deposteron® e Winstrol Depot® não provocaram alteração significativa na densidade de corpos celulares de neurônios na amígdala central. Este resultado indica que o uso do esteroide anabolizante Deposteron® (Cipionato de Testosterona) e Winstrol Depot® (Stanozolol) podem provocar uma redução significativa considerável na quantidade de neurônios na amígdala central de mulheres que fazem uso deste fármaco. Mesmo que os resultados não apontam significância na redução de neurônios em machos, não podemos afirmar que o uso deste esteroide seja seguro para os homens, devido aos demais resultados quantitativos apresentados neste trabalho, bem como dados

apresentados pela literatura científica, comprovando os diversos efeitos colaterais e deletérios para a saúde física e mental dos usuários.

Estudos indicam que a longo prazo riscos associados com o uso de esteroides anabólicos androgênicos (EAA) são mais frequentes em mulheres do que nos homens (FRANKE e BERENDONK, 1997).

Em um trabalho realizado por Guillamón, 1988, mostra que existem diferenças entre os sexos quanto ao número de neurônios na região posterior medial e a divisão lateral do núcleo da estria terminal de ratos, mostrando que os machos apresentam um maior número de neurônios que as fêmeas, especialmente quando essas fêmeas são androgenizadas, sugerindo que as diferenças morfológicas existentes entre os sexos, são controladas por esteroides sexuais durante o período perinatal.

Outro estudo mostra também que a ação da testosterona durante a diferenciação sexual dá origem a diferenças entre os grupos, enquanto que os efeitos experimentais, em que a secreção do hormônio é evocada numa base individual de acordo com os eventos da vida pessoal, são responsáveis pelas diferenças individuais, mesmo entre gêmeos idênticos com a mesma constituição genética (MCEWEN, 1992).

Os resultados de comportamento agressivo dos machos tratados, não tiveram significância estatística, entretanto, todos os animais apresentaram comportamento bastante agressivo em confronto com os animais intrusos, inclusive os animais do grupo controle. Os machos foram mais violentos nos ataques quando comparados às fêmeas, todos os animais machos residentes, tratados com as substâncias anabolizantes, Deposteron® e Winstrol Depot®, apresentaram comportamento bastante agressivo com os animais intrusos e não-tratados.

De acordo com McGinnis et al., 2004, em humanos, agressividade é uma resposta biológica natural, proeminente no gênero masculino, na busca da satisfação de necessidades básicas como alimentação e defesa territorial, assim como nos mamíferos, a agressividade é geralmente empregada para a defesa do território e acesso às fêmeas.

A maioria dos estudos sobre os efeitos dos EAA no comportamento agressivo utilizam roedores machos (CHRISTIE; BARFIELD 1979; CLARK; HENDERSON 2003), desta forma, podemos dizer que, conforme resultados encontrados neste estudo, os machos apresentaram um comportamento agressivo bastante expressivo, quando comparados as fêmeas, devido à agressividade nata que ocorre tanto em roedores quanto em humanos, especialmente do sexo masculino, na tentativa de defesa de seu território, que pode ter sido

agravada pelo uso de EAA, já que os andrógenos são reconhecidos como moduladores do comportamento agressivo (BARFIELD, BUSCH ; WALLEN 1972; SVARE, 1990).

Entretanto, a relação entre o uso de roedores como modelo experimental e o comportamento agressivo apresentado pelos mesmos quando tratados com EAA, é de caráter contraditório, pois a análise dos resultados é afetada por diversas variáveis, como a classe, a combinação ou não de classes de EAA, dose, gênero, tempo de tratamento, idade dos animais e a metodologia empregada para avaliar o comportamento agressivo (HENDERSON, 2003; MCGINNIS, 2004).

Contudo, estudos anteriores também mostraram que o uso indiscriminado de EAA em humanos, levou a diversos efeitos comportamentais incluindo: mania, hipomania, somatização, aumento da ansiedade, irritabilidade, oscilações extremas de humor, níveis anormais de agressividade e paranóia (GRUBER e POPE, 2000; TRENTON e CURRIER, 2005; PAGONIS et al., 2006.). Alguns ensaios clínicos randomizados, mostram ainda, que o uso de doses moderadas de EAA em indivíduos adultos do sexo masculino, levou a um aumento dos níveis de hostilidade e ansiedade (SU et al., 1993; POPE et al., 2000).

Em roedores, a agressividade pode ser mensurada pela observação da quantidade e qualidade dos atos agressivos despendidos pelo animal residente contra o animal intruso (CLARK e HENDERSON, 2003; MCGINNIS, 2004). Os resultados deste estudo, não apresentaram significância estatística, quanto ao tempo de latência para o 1º ataque e o número de ataques. Entretanto, ao analisar os vídeos, foi possível observar que o tratamento realizado com Deposteron® e Winstrol Depot®, fez com que os animais se tornassem mais agressivos, em relação ao controle.

Quanto à postura dos animais, durante todo o experimento pôde-se verificar uma postura submissa e neutra dos animais intrusos, em contrapartida, uma postura dominante dos animais residentes. O estudo de LUMIA et al., 1994, demonstrou que o tratamento por 10 semanas com testosterona (1mg/rato, 3 vezes por semana), em machos *Long-Evans*, aumentou a postura dominante e reduziu a postura submissa quando comparados com os ratos controles.

Por outro lado, BREUER et al., 2001, administrou propionato de testosterona, decanoato de nandrolona e estanozolol em ratos *Long-Evans* (5mg/kg, 5 vezes por semana durante 12 semanas), o comportamento agressivo aumentou significativamente no grupo tratado com propionato de testosterona quando comparado com o grupo controle; o grupo tratado com decanoato de nandrolona e o grupo controle demonstraram níveis similares de agressividade.

Assim como os resultados encontrados neste estudo, o grupo tratado com estanozolol exibiu níveis significativamente menores de agressividade que os grupos testosterona e decanoato de nandrolona, e da mesma maneira quando comparado ao controle. Este efeito paradoxal do estanozolol em abolir o comportamento agressivo foi atribuído aos diferentes mecanismos de ação envolvendo alvos celulares e moleculares dos EAA no SNC (BREUER et al., 2001).

O estudo de McGinnis et al., 2002, demonstrou que o tratamento com propionato de testosterona associado à provocação física nos animais (através da puxada de cauda, "tail pinch") aumentou a agressividade de roedores, os autores deste trabalho especulam que o propionato de testosterona sensibiliza o animal para inferir os ataques ao animal intruso e estimula a agressividade.

Os resultados de Breuer, McGinnis e Lumia, 2001, sugerem uma ausência de efeitos de decanoato de nandrolona sobre a agressividade e uma supressão do comportamento agressivo em roedores machos tratados com estanozolol. Em contrapartida, o estudo de Long et al., 1996 demonstrou que ratos *Sprague-Dawley* que receberam decanoato de nandrolona (2mg/dia/rato ou 20mg/semana/rato, durante 4 semanas) apresentaram altos níveis de agressividade quando comparados ao grupo controle. Usando teste de competição para ingestão da água como medida de agressividade, ratos machos tratados com decanoato de nandrolona, demonstrou dominância diante do acesso ao bebedouro em relação ao grupo controle (LINDQVIST et al., 2002).

O estudo de Farrell e McGinnis, 2003, demonstrou que a provocação física estimula a agressividade em ratos tratados com testosterona, decanoato de nandrolona e estanozolol, sendo significativamente diferente do grupo controle. Todavia, na ausência de provocação física os animais tratados com EAA não demonstraram comportamento agressivo em nem um dos três grupos, quando comparados ao grupo controle (MCGINNIS ET AL., 2002).

A maior parte dos estudos que avaliam os efeitos da testosterona demonstra que a mesma causa alterações sobre a interação social no que diz respeito ao comportamento sexual e agressivo (CLARK et al., 1997; MCGINNIS, 2004; SALAS-RAMIREZ, MONTALTO e SISK, 2010). Porém, estes efeitos são de natureza contraditória por ser dependente do tipo de andrógeno, dose administrada, tempo de tratamento e idade/sexo do animal (CLARK; HENDERSON, 2003).

Portanto, de acordo com estudos prévios realizados com EAA, os efeitos de substâncias anabolizantes sobre a agressividade são dependentes do tipo de composto, da espécie estudada, como do gênero dos animais. A administração do propionato de testosterona

em doses supra-fisiológicas por longo período de tempo aumenta o comportamento agressivo em ratos machos não castrados. A provocação física aumenta esse comportamento agressivo em contexto social e ambiental não provocando esse comportamento em animais controles. O estanozolol, não estimula a agressividade, ou às vezes, até atenua este tipo de comportamento, assim como os resultados encontrados neste estudo (CLARK; HENDERSON, 2003).

Quanto às estruturas neuronais envolvidas na regulação do comportamento emocional, estudos sugerem que a hiperexcitabilidade da amígdala contribua parcialmente às bases neurais envolvidas nos distúrbios de medo e ansiedade, controle de impulso e comportamentos agressivos (DAVIDSON et al., 2000; KEELE, 2005; COCCARO et al., 2007; NELSON e TRAINOR, 2007). Altas doses de nandrolona administradas por 2 semanas em porquinhos da Índia, demonstrou ativação na amígdala central pelo uso desse EAA (JOHANSSON-STEENSLAND et al. 2002).

O comportamento agressivo ocorre pela interação entre amígdala e hipotálamo, local onde as emoções são formadas, e a área pré-frontal, onde as emoções são percebidas e controladas. A ação da testosterona no cérebro começa na fase embrionária. O número de repetições de receptores de andrógenos no DNA, parece desempenhar um papel na expressão do comportamento agressivo. Técnicas de neuroimagem em adultos do sexo masculino têm demonstrado que a testosterona ativa a amígdala em estados emocionais. O grau de impulsividade é regulado pela serotonina, este neurotransmissor é considerado fundamental no processo de agressão no cérebro. A testosterona ativa as áreas subcorticais do cérebro para produzir a agressão, enquanto o cortisol e a serotonina possuem ação antagônica à testosterona reduzindo seus efeitos (BATRINOS, 2012).

Em humanos o uso crônico de EAA, intensifica a agressividade, elevando os níveis de homicídios praticados por adolescentes. Os usuários adolescentes são mais suscetíveis a atos de violência, impaciência/impulsividade e irritabilidade, e tais efeitos se correlacionam positivamente com níveis séricos de testosterona (MCGINNIS, 2004. Em controvérsia, alguns estudos não demonstraram evidências do aumento da agressividade em indivíduos saudáveis quando administradas doses elevadas de EAA (WANG et al. 1996).

Diversos estudos realizados com diferentes EAA mostram que existem controvérsias quanto ao efeito agressivo induzido pelo uso dessas substâncias, apesar de haver fortes evidências de que usuários de EAA, especialmente adolescentes, sofram fortes alterações comportamentais, principalmente de natureza agressiva, após administração dessas substâncias.

Quanto às análises morfométricas, devido á falta de dados referentes à ação dos EAA no sistema nervoso, este estudo, bem como outros estudos realizados pelo grupo de pesquisa do Departamento de Anatomia da Unifal-MG, torna-se de grande relevância científica no sentido de elucidar os possíveis efeitos deletérios dos EAA nas estruturas cerebrais e suas funções cognitivas e no comportamento emocional. Entretanto faz-se necessário a realização de outras pesquisas de natureza comportamental, morfológica, molecular e bioquímica, tanto dos EAA quanto de substâncias relacionadas a essas substâncias, como neurotransmissores, enzimas e outras substâncias químicas que podem ser sintetizadas e liberadas por indução da administração dessas substâncias.

8 CONCLUSÃO

De acordo com os experimentos realizados, é possível inferir que o uso dos esteroides anabolizantes Deposteron® (Cipionato de testosterona) e Winstrol Depot® (Stanozolol), podem provocar morte neuronal no hipotálamo lateral de machos e fêmeas e na amígdala central de fêmeas. Entretanto, o tratamento feito com Deposteron® e Winstrol Depot®, não demonstrou significância quanto à alteração da densidade de corpos celulares neuronais na amígdala central de machos.

Os resultados referentes à análise de comportamento agressivo, paradigma residente-intruso não apresentaram significância estatística, entretanto, podemos afirmar que os animais tratados com EAA apresentaram comportamento agressivo, pôde-se verificar durante as análises experimentais, uma postura submissa e neutra dos animais intrusos, em contrapartida, uma postura dominante dos animais residentes.

Portanto, podemos concluir, de acordo com os resultados obtidos neste trabalho, que o uso dos EAA Deposteron® e Winstrol Depot®, podem levar a morte celular neuronal, com comprometimento de funções na amígdala central e hipotálamo lateral, bem como levar a alterações comportamentais, apesar de haver controvérsias entre a relação do uso de EAA e comportamento agressivo em roedores, devido a alguns parâmetros utilizados para a realização destes experimentos, sendo necessários mais estudos, de natureza comportamental, bem como, morfológicos, moleculares e bioquímicos, para melhor elucidação dos possíveis efeitos danosos que podem ser provocados pelo uso abusivo de EAA.

REFERÊNCIAS

ABOUDKHIL, S. et al. Effects of castration, Depo-testosterone and cyproterone acetate on lymphocyte T subsets in mouse thymus and spleen. [Scand J Immunol](#), v. 34, n. 5, p. 647-653, 1991.

ACEVEDO, P. et al. Ten-year Assessment of Anabolic Steroid Misuse among Competitive Athletes in Puerto Rico. **West Indian Med J**, v. 60, n. 5, p.531-535, 2011.

[ACKERMAN, M. J.](#) et al. A novel mutation in KVLQT1 is the molecular basis of inherited long QT syndrome in a near-drowning patient's family. [Pediatr Res](#), v. 44, n. 2, p.148-153, 1998.

AIRES, M. DE M. **Fisiologia**. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 1999.

ALTSCHULE, M.D. TILLOTSON, K.J. The use of testosterone in the treatment of depressions. **N Engl J Med**, v. 23, n. 9, p. 6-8, 1948.

AMBAR, G; CHIAVEGATTO, S. Anabolic-androgenic steroid treatment induces behavioral disinhibition and downregulation of serotonin receptor messenger RNA in the prefrontal cortex and amygdala of male mice. **Genes, Brain and Behavior**, v. 8, p. 161-173. 2009.

ANNITTO, W.J; LAYMAN, W. A. Anabolic steroids and acute schizophrenic episode. **J Clin Psychiatry**, v. 4, n. 1, p.143-4, 1980.

BAHRKE, M.S. et al. Selected psychological characteristics of anabolic-androgenic steroid users. **N Engl J Med**, v. 32, n. 3, p. 834-835. 1990.

BATRINOS, M. L. Testosterone and Aggressive Behavior in man. **Int J Endocrinol Metab**. v. 10, n. 3, p.563-68, 2012.

BEAR, M.F. et al. **Neurociências desvendando o sistema nervoso**. 2. ed. Porto Alegre, Artmed; 2002.

BASARIA, S. et al. Clinical review 138Anabolic-androgenic steroid therapy in the treatment of chronic diseases. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 86, n. 11, p. 11-17, 2001.

BAHRKE, M.S. et al. Risk factors associated with anabolic-androgenic steroid use among adolescents. **Sports Med**, v. 29, n. 6, p.397-405, 2000.

BARFIELD, R.J. et al. BLANCHARD, R.R; BLANCHARD, C. Crouching as an index of fear. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, v. 67, p.370-375, 1969.

BOLDING, G. et al. Use of anabolic steroids and associated health risks among gay men attending London gyms. **Addiction**, v. 9, n. 7, p.19-22. 2002.

BONETTI, A. et al. Side effects of anabolic steroids abuse. **Int J Sports Med**, v.29, p.679-87, 2008.

BREUER, M.E. et al. Aggression in male rats receiving anabolic androgenic steroids effects of social and environmental provocation. **Horm Behav**, v. 40, n. 3, p.409-418, 2001.

BROOKS, J.H; REDDON, J.R. Serum testosterone in violent and nonviolent young offenders. **J Clin Psychol**,v. 52, n. 4, p.475-483, 1996.

BROWER, K. J. Anabolic steroids. **Psychiatr Clin North Am**, v.16; n.1, p.97-103,1993.

BROWER, K.J. Anabolic steroidsaddictive, psychiatric, and medical consequences. **Am J Addictions**, p. 1100-14, 1992a.

BROWN, M.W.; AGGLETON, J.P., Recognition Memory:What are the roles of perirhinal cortex and hippocampus? **Neuroscience**, vol. 2. p. 51, 2001.

CAROBREZ, A.P, BERTOGLIO, L.J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behaviorThe elevated plus-maze model 2years on. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, vol. 3, n. 29, p.1193-1205, 2005.

CATLIN, D.H. Anabolic androgenic steroids. InKarch SB. **Drug abuse handbook**, Boca Raton CRC Press, p.653-71, 1998

CATO, A.C. et al. Rapid Actions of Steroid Receptors in Cellular Signaling Pathways. **SCI. STKE**, v. 38, n. 9, p.111, 2002.

CEBRID (Centro Brasileiro de Informaes sobre Drogas psicotrpicas) HYPERLINK http://www.unifesp.br/dpsicobio/cebrid/lev_domiciliar2005/index.htm<http://www.unifesp.br/>

dpsicobio/cebrid/lev_domiciliar2005/index.htm.

CELOTTI, F; CESI, P.N. Anabolic Steroids A review of their effects on the muscle, of their possible mechanisms of action and of their use in athletics. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 43, n. 5, p.469-77, 1992.

CERRO, C.L. et al. Doping. Drogodependencias. **Madrid Panamericana**, p.385-95, 1998.

CHHATWAL, J.P. Modulation of Fear and Anxiety by the Endogenous Cannabinoid System. **CNS Spectr.** March, v. 12, n. 3, p.211-220, 2007.

CHOI, P.Y.L. et al. High-dose anabolic steroids in strength athletes effects upon hostility and aggression. **Hum Psychopharmacol**, p. 5349-56, 1990.

CHRISTIE, M.H., BARFIELD, R.J. Effects of castration and home cage residency on aggressive behavior in rats. **Horm Behav.** v. 13, n. 1, p.85-91, 1979.

CLARK, A.S. et al. Anabolic-androgenic steroid and adrenal steroid effects on hippocampal plasticity. **Brain Res**, V. 679, n.1, p.6471, 1995.

CLARK, A.S; FAST, A.S. Comparison of the effects of 17 alpha-methyltestosterone, methandrostenolone, and nandrolone decanoate on the sexual behavior of castrated male rats. **Behav Neurosci**, v. 110, n. 6, p.1478-1486, 1996.

CLARK, A.S. et al. Anabolic-androgenic steroid effects on the sexual behavior of intact male rats. **Horm Behav**, v. 31, p.3546, 1997.

CLARK, A.S. HENDERSON, L.P. Behavioral and physiological responses to anabolicandrogenic steroids. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 27, n. 5, p.413-436, 2003.

COCCARO, E.F. et al. Serotonin function and antiaggressive response to fluoxetine a pilot study. **Biological Psychiatry**, v. 42, p. 546-552, 1997.

COCCARO, E.F. et al. Serotonin function in human subjectsintercorrelations among central 5-HT indices and aggressiveness. **Psychiatry Researc**, v. 73, p.11, 1997.

COCCARO, E.F. et al. Amygdala and orbitofrontal reactivity to social threat in individuals with impulsive aggression. **Biol Psychiatry**. V.62, n.2, p.168-178, 2007.

CONACHER, G.N.; WORKMAN, D.G. Violent crime possibly associated with anabolic steroid use. **Am J Psychiatry**, v. 146, n. 5, p.679, 1989.

CONWAY, A.J. et al. Use, misuse and abuse of androgens. The Endocrine Society of Australia consensus guidelines for androgen prescribing. **Med J Aust**, v. 172, n. 5, p.220-224, 2000.

COPLAN, J.D; LYDIARD, R.B. The neurobiology of anxiety disorders. Brain circuits in panic disorder. **Biol. Psychiat**. v. 44, p.1264–1276, 1998.

CORRIGAN, B. Anabolic steroids and the mind. **Med J**, n. 165, p.222-226, 1996.

CREUTZBERG, E.C. et al. A role for anabolic steroids in the rehabilitation of patients with COPD? **A double-blind, placebo controlled, randomized trial**. Chicago. v. 124, n. 5, p.1733-42, 2003.

CREUTZBERG, E.C; SCHOLS, A.M.W.J. Anabolic steroids. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 2, n. 3, p.243-53, 1999.

CRUZ, C.S; MARCONDES, F.K. Esteroides anabólicos androgênicos e sua relação com a prática esportiva. **Rev Bras Cinc Farmac**, v. 40, n. 21, p.65-79, 2004.

DABBS, J.R; et al. Salivary testosterone and cortisol among late adolescent male offenders. **J. Abnorm. ChildPsychol**, v. 19, p.469-478, 1991.

DALBY, J.T. Brief anabolic steroid use and sustained behavioral reaction. **Am J Psychiatry**, v. 14, n.92, p.71-72, 1992.

DAMASIO, A. R; GESCHWIND, N. The Neural Basis of Language. **Neuroscience**, V. 7, p. 127-147, 1984.

DAMIÃO, B. et al. Quantificação de Corpos de Neurônios em Camundongos Submetidos ao Uso de Esteroides Anabolizantes. **Revista de Neurociencias**, v. 20, p.68-72, 2012.

DAVIDSON, R.J. et al. Dysfunction in the neural circuitry of emotion regulation--a possible prelude to violence. **Science**. v. 89, n. 5479, p.591-594, 2000.

DE GELDER, B. et al. Fear fosters fighta mechanism for fear contagion when perceiving emotion expressed by a whole body. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 101, n. 47, p.6701, 2004.

DELEON, K.R. et al. Repeated Anabolic-Androgenic Steroid Treatment during Adolescence Increases Vasopressin V1A Receptor Binding in Syrian HamstersCorrelation with Offensive Aggression. **Hormones and Behavior**, v. 42, n. 2, p.182-191, 2002.

DELVILLE, Y; MANSOUR, K.M; FERRIS, C.F. Serotonin blocks vasopressin-facilitated offensive aggressioninteractions within the ventrolateral hypothalamus of golden hamsters. **Physiology Behavior**, v. 59, p.8136, 1996.

DEMLING, R.H, ORGILL, D.P . The anticatabolic and wound healing effects of the testosterone analog oxandrolone after severe burn injury. **Hormones and Behavior**, v. 15, n. 1, p.12-7, 2000.

DI CARLO, P; ABBADESSA, G. Effects of sub-chronic nandrolone administration on hormonal adaptive response to acute stress in rats. **Psychoneuroendocrinology**, v. 37, n. 12, p.341-347, 2012.

DONAHUE, J.L; LOWENTHAL , D.T. Androgens, anabolic-androgenic steroids, and inhibitors. **Am J Ther**, v. 7, p.365-373, 2000.

DRIESSEN, M. et al. Child exual abuse associated with anabolic androgenic steroid use. **Am J Psychiatry**, v. 15, n.31, p.369, 1996.

ENGLISH, K. M; et al. Low-dose transdermal testosterone therapy improves angina threshold in men with chronic stable anginaa randomized, double-blind, placebo-controlled study. **Circulation**, v. 102, n. 16, p. 906-1911, 2000.

EVANS, N.A. Gym and tonica profile of 10male steroid users. **British Jounal of Sports Medicine**,v.31, n.1, p.54-8, 1997.

EVANS, N.A. Current Concepts in Anabolic-Androgenic Steroids.**Am J Sports Med**, v. 32, n. 2, p.534-542, 2004.

EVANS-BROWN, M.J; MCVEIGH, J. An introduction to anabolic steroids. **SportEX medicine**, v. 38, p.20-26, 2008.

FALKENSTEIN, E. et al. actions of steroid hormones - a focus on rapid, nongenomic effects. **Pharmacol Ver**, v. 52, n. 4, p.513-556 2000.

FANSELOW, M.S. Conditioned and unconditional components of post-shock freezing. **Pavlov J Biol Sci**. v. 15, n. 4, Oct-Dec, p.177-182. 1980.

FARRELL, S.F., MCGINNIS, M.Y. Effects of pubertal anabolic-androgenic steroid (AAS) administration on reproductive and aggressive behaviors in male rats. **Behav Neurosci**. v. 117, n. 5, p.904-911, 2003.

FENICHEL, G.M. A randomized efficacy and safety trial of oxandrolone in the treatment of Duchenne dystrophy. **Neurology**, v. 56, n. 8, p.1075-1079, 2001.

FERRIS, C.F. Serotonin diminishes aggression by suppressing the activity of the vasopressin system. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.794, p.98-103. 1996.

FERRIS, C.F. et al. Vasopressin/ serotonin interactions in the anterior hypothalamus control aggressive behavior in golden hamsters. **Journal of Neuroscience**, n.17, n. 43, p.31-40, 1997.

FERRIS, C.F; et al. Serotonin regulation of aggressive behavior in male golden hamsters (*Mesocricetus auratus*). **Behavioral Neuroscience**, v. 113, n. 80, p.415, 1999.

FISCHER, S.G. et al. Repeated anabolic/androgenic steroid exposure during adolescence alters phosphate-activated glutaminase and glutamate receptor 1 subunit immunoreactivity in hamster brain correlation with offensive aggression. **Behavioral Brain Research**, v. 180, n.1, p.77-85, 2007.

FLYNN, J.P. The neural basis of aggression in cats. In Glass DC. **Neurophysiology and Emotion**, 1967.

FRANKE, W.W., BERENDONK, B. Hormonal doping and androgenization of athletes a secret program of the German Democratic Republic government. **Clin. Chem**, v. 43, n. 126, p.212-279, 1997.

FRAZER, A ; HENSLER, J. **Serotonin, in Basic Neurochemistry Molecular and Medical** . Ed. Aspects, Raven Press, New York, 5th ed., p. 283-308, 1994.

FREINHAR, J.P. ALVAREZ, W. Androgen-induced hypomania. **J Clin Psychiatry**, v.46, p.354-355, 1985.

FRIEDL, K.E. Reappraisal of the health risks associated with the use of high doses of oral and injectable androgenic steroids. **NIDA Res Monogr**, v. 10, n. 21, p.42-77, 1990.

GALABURDA, [A. M.](#); et al. Planum temporale asymmetry, reappraisal since Geschwind and Levitsky. [Neuropsychologia](#), v.25, n. 6, p. 853–868, 1987.

GHAPHERY, N.A. Performance-enhancing drugs. **Orthop Clin N Am**, v.26, n.4, p.33-42, 1995.

GESCHWIND, N; GALABURDA, A. M. Cerebral lateralization: Biological mechanisms, associations, and pathology: I. A hypothesis and a program for research. **Archives of Neurology**, v. 42, p.428–59, 1985a.

GESCHWIND, N; GALABURDA, A. M. Cerebral lateralization: Biological mechanisms, associations, and pathology: II. A hypothesis and a program for research. **Archives of Neurology**, v. 42, p.521–52, 1985b.

GESCHWIND, N; GALABURDA, A. M. Cerebral lateralization: Biological mechanisms, associations, and pathology: III. A hypothesis and a program for research. **Archives of Neurology**, v. 42, p.634–54, 1985c.

GESCHWIND, N; LEVITSKY, W. Human brain: Left-right asymmetries in temporal speech region. **Science**, v. 16, p.186–87, 1968.

GIBSON, A.S.T.C. Anabolic steroids - a contemporary perspective. **S Af Med Journal**, v.84, n.46, p.8-9, 1994.

GOLDWIRE, M.A; PRICE, K.O. Sports Pharmacy Counseling Athletes About Banned Drugs. **Amer Pharm**, v.35, p.24-30, 1995.

GOODMAN; GILMAN'S. **The Pharmacological Basis of Therapeutics**, 9th ed., Brunton, L.L., Lazo, J.S., Parker, K.L.; New YorkMcGraw-Hill, 2006.

GORMAN, J. M. et al. Neuroanatomical Hypothesis of Panic Disorder, Revised. **Am J Psychiatry**, v. 157, p.493-505, 2000.

GUILLAMON, A. et al. Effects of sex steroids on the development of the lócus coeruleus in the rat. **Dev. Brain Res.** v.40, p. 306-310. 1988a.

GRUBER, A.J. et al. Psychiatric and medical effects of anabolic-androgenic steroid use in women. *Psychother. Psychosom.* v. 69, p.19—26, 2000.

GRIMES, J.M.; MELLONI, J.R.. Serotonin modulates offensive attack in adolescent anabolic steroid-treated hamsters. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior.* v. 73, n. 71, p.321, 2002.

GRIMES, J.M. et al. Glutamic acid decarboxylase (GAD65) immunoreactivity in brains of aggressive, adolescent anabolic steroid-treated hamsters. *Hormones and Behavior*, v. 44, n. 27, p.180, 2003.

GRIVETTI, L. E; APPELEGATE, E.A. From Olympia to Atlanta cultural-historical perspective on diet and athletic training. *J Nutr*, v.127, n.5, p. 860-868, 1997.

GRUBER, A.J; POPE, J. R. Psychiatric and medical effects of anabolic-androgenic steroid use in women. *Psychother Psychosom*, v.69, n. 1, p. 19-26, 2000.

HALLBERG, M; et al. Anabolic-androgenic steroids affect the content of substance P and substance P(1-7) in the rat brain. *Peptides.* v. 21, n.6, p.845-852, 2000.

HALL, R.C; HALL, R.C. Abuse of supraphysiologic doses of anabolic steroids. *South Med J*, v. 98, p. 55-65, 2005.

HANDELSMAN, D.J; HEATHER, A. Androgen abuse in sports. *Asian J Androl*, v. 10, n.3, p.403-415, 2008.

HANDELSMAN, D.J. Androgen action and pharmacologic uses. In De Groot LJ, Jameson JL, editors. *Endocrinology*, p.232-42, 2001.

HARRISON, R.J; et al. Chronic anabolic androgenic steroid treatment during adolescence increases anterior hypothalamic vasopressin and aggression in intact hamsters. *Psychoneuroendocrinology*, v. 25, n. 4, p.317-338, 2000.

HARTGENS, F.; KUIPERS, H. Effects of androgenic-anabolic steroids in athletes. *Sports Med*, v. 34, p.513-554, 2004.

HEBERT, A; et al. Anabolic steroids a review of the literature. *The American Journal of Sports Medicine*, v.12, p.469-84, 1984.

HENDERSON, L.P; et al. Anabolic androgenic steroids and forebrain GABAergic transmission. **Neuroscience**, v. 138, p.793-799, 2006.

HISTAD, M; BARBAS,H. Sequence of information processing for emotions through pathways linking temporal and insular cortices with the amygdala. **Neuroimage**, v. 40, n.3, p.1016-1033, 2008.

HOUGH, D.O. Anabolic steroids and ergogenic aids. **Am Fam Phys**, v. 41, n.4, p.1157-1164, 1990.

HÖISTAD, M., BARBAS, H. Sequence of information processing for emotions through pathways linking temporal and insular cortices with the amygdala. **Neuroimage**, v. 40, n. 3, p.1016-1033, 2008.

[INAMDAR DODDAMANI L. S](#); [JAYAMMA Y](#). Acceleration of neutrophil precursors' maturation and immunostimulation of CD3+, CD4+ lymphocytes by stanozolol in mice. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v. 129, n.3-5, p.172-178, 2012.

IRIART, J.A.B; ANDRADE, T.M. Body-building, steroid use, and risk perception among young body-builders from a low-income neighborhood in the city of Salvador, Bahia State, Brazil. **Cad Sade Pblica**, v.18, n.5, p.1379-138, 2002.

JARED, J; SCHWARTZER L. A. et al. Adolescent anabolic-androgenic steroid exposure alters lateral anterior hypothalamic serotonin-2A receptors in aggressive male hamsters. **Behavioural Brain Research**, v. 199, n. 25, p.62-72, 2009.

JARED, J; et al. Dopamine Activity in the Lateral Anterior Hypothalamus Modulates Aas-Induced Aggression through D2 but not D5 Receptors. **Behav Neurosci**, v. 124, n. 56, p.455-455, 2010.

JOHANSSON-STEENSLAND, P. et al. The anabolic androgenic steroid, nandrolone decanoate, increases the density of Fos-like immunoreactive neurons in limbic regions of guinea-pig brain. **Eur J Neurosci**. v. 15, n. 3, p.539-544, 2002.

JOHNSON, W.O. Steroids a problem of huge dimensions. **Sports Illustrated**, v. 5, n.13, p.38-54, 1985.

KAM, P.C; YARROW, M. Anabolic steroid abusephysiological and anaesthetic

considerations. **Anaesthesia**, v. 60, n. 7, p.685-92, 2005.

KANAYAMA, G; et al. Long-term psychiatric and medical consequences of anabolicandrogenic steroid abuseA looming public health concern? **Drug and Alcohol Depend**, v. 98, p.112, 2008.

KARBALAY-DOUST, S; et al. The reversibility of sperm quality after discontinuing nandrolone decanoate in adult male rats. **Asian J Androl**, v. 9, n. 2, p.235-239, 2007.

KEELE, N.B. The role of serotonin in impulsive and aggressive behaviors associated with epilepsy-like neuronal hyperexcitability in the amygdala. **Epilepsy Behav**. v. 7, n. 3, p. 325-335, 2005.

KICMAN, A.T. Pharmacology of anabolic steroids. **Br J Pharmacol**, v. 154, n. 3, p.502-521, 2008.

KINDERMANN, W. Cardiovascular side effects of anabolic-androgenic steroids. **Herz, Munchen**, v. 31, p. 566-73, 2006.

INDLUNDH, A.M.; et al. The anabolicandrogenic steroid nandrolone decanoate affects the density of dopamine receptors in the male rat brain. **Eur J Neurosci**, v. 13, n. 2, p.291-296. 2001.

KINDLUNDH, A.M; et al. The anabolic-androgenic steroid nandrolone induces alterations in the density of serotonergic 5HT1B and 5HT2 receptors in the male rat brain. **Neuroscience**, v. 119, n.1, p.113- 120, 2003.

KUHN, C.M. Anabolic Steroids. **Recent Progress in Hormone Research**. v.57, p.411-34, 2002.

KUIPERS, H; WIJNEN, J. A; HARTGENS, F; WILLEMS, S.M. Influence of anabolic steroids on body composition, blood pressure, lipid profile and liver functions in body builders. **Int J Sports Med**, v. 12, p.413-418, 1991.

LEDOUX, J. E. Emotional memory systems in the brain. **Behav Brain Res**. v.58, n.1-2, Dec 20, p.69-79, 1993.

LEDOUX, J. The emotional brain, fear and the amygdala. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v.23, p.727-38, 2003.

LE GREVS, P; HUANG. et al. Effects of an anabolic-androgenic steroid on the regulation of

the NMDA receptor NR1, NR2A and NR2B subunit mRNAs in brain regions of the male rat. **Neurosci Lett**, v. 226, n. 1, p.61-64, 1997.

LANCHA JUNIOR, H.A. **Nutrição e Metabolismo aplicados atividade motora**. São Paulo. Atheneu, 2002.

LEFAVI, R.G; . et al. Relationship between anabolic steroid use and selected psychological parameters in male bodybuilders. **J Sport Behav**, v. 13, p. 157-166, 1990.

LINDQVIST, A.S. **et al.** Anabolic androgenic steroid affects competitive behaviour, behavioural response to ethanol and brain serotonin levels. **Behav Brain Res**. v. 133, n.1, p. 21–9, 2002.

LISE, M.L, DA GAMA, SILVA, E.S, FERIGOLO, M, BARROS, H.M. Abuse of anabolic-androgenic steroids in sports. **Rev Assoc Med Bras**, v.45, n.4, p.364-70, 1999.

LISTER, R.G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, v. 92, p.180-185, 1987.

LUKAS, S.E. Current perspectives on anabolic-androgenic steroid abuse. **TIPS**. P.1461-1468, 1993.

LUKAS, S.E. CNS effects and abuse liability of anabolic-androgenic steroids. **Ann Rev Pharmacol Toxicol**, v. 36, p.333-357, 1996.

LUMIA, A.R. **et al.** Effects of chronically high doses of the anabolic androgenic steroid, testosterone, on intermale aggression and sexual behavior in male rats. **Physiol Behav**. v. 55, n. 2, p.331–5, 1994.

MANDARIN-DE-LACERDA, C.A. Stereological Tools in Biomedical Research. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.75, n.4, p.469-486, 2003.

MANDARIM-DE-LACERDA, C.A. **Manual de quantificação Morfológica Morfometria, Alometria e Estereologia**. 2.ed. Rio de Janeiro CEBIO, 1994.

MANETTA, M.C.D.P; SILVEIRA, D.X. Uso abusivo de anabolizantes androgênicos. **Psiquiatria na Prática Médica**, São Paulo, v.33, p.1-3, 2000.

MANSOUR, A . et al. Localization of dopamine D2 receptor mRNA and D1 and D2 receptor

binding in the rat brain and pituitary in situ hybridization-receptor autoradiographic analysis. **J. Neurosci**, v. 10, n. 25, p. 860-872, 1990.

MCGAUGH, J. Memory—a century of consolidation. **Science**, v. 287, p.248–251, 2000.

MCGINNIS, M.Y.; LUMIA, A.R.; BREUER, M.E.; POSSIDENTE, B. Physical provocation potentiates aggression in male rats receiving anabolic androgenic steroids. **Horm Behav.** v. 41, p.101–10, 2002.

MCGINNIS, M.Y. Anabolic Androgenic Steroids and Aggression Studies Using Animal Models. **Ann N Y Acad Sci.** v. 1036, p. 399–415, 2004.

MCDONALD, A.J. Cortical pathways to the mammalian amygdala. **Prog. Brain Res**, v.55, p. 257-332, 1998.

MARAVELIAS, C. et al. Adverse effects of anabolic steroids in athletes A constant threat. **Toxicol Lett**, v.158, n. 3, p.167-175, 2005.

MARQUES, M. A. S. et al. Controle de dopagem de anabolizantes e seu perfil esteroidal e suas regulaes. **Rev Bras Med Esporte**, v. 9, p.15-22, 2003.

MATTSSON, A. et al. Plasma testosterone, aggressive behavior, and personality dimensions in young male delinquents. **J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry**, v. 19, p.476-490, 1980.

MATSUMOTO, A.M. **Endocrinology diseases unique to men.** In Bennett JC. Plum F eds. Cecil Textbook of Medicine, 20th ed. Philadelphia, WB. Saunders Co., 1325-41. 1996.

MCINTYRE, K.L. et al. Anabolic androgenic steroids induce age, sex, and dose-dependent changes in GABA(A) receptor subunit mRNAs in the mouse forebrain. **Neuropharmacology**, v. 43, n. 4, p.634-645, 2002.

MELLO, M.T. et al. O exercicio físico e os aspectos psicobiológicos. **Rev Bras Med Esporte**, v. 11, n.3, 2005.

MELO, J. M. S. **Dicionrio de Especialidades Farmacuticas**, 25. ed. São Paulo-Rio de Janeiro, Editora de Publicaes Cientficas LTDA, 1996-1997.

MIDDLEMAN, A.B; FAULKNER, N.A; WOODS, E.R; EMANS, S.J; DURANT, R.H.

Highrisk behaviors among high school students in Massachusetts who use anabolic steroids. **Pediatrics**, v.96, p.268-72, 1995.

MIDGLEY, S.J. et al. Levels of aggression among a group of anabolicandrogenic steroid users. **Med Sci Law**, v. 41, n. 4, p.309-314, 2001.

MOORADIAN, A. D. et al. Biological actions of androgens. **Endocr Ver**, v. 8, p.11-28, 1987.

MORLEY, J.E; KRAHN, D. D. **Endocrinology for the psychiatrist**, InNemeroff, C.B. Losen, P.T. (eds.) Handbook of clinical psychoneuroendocrinology. Guilford Press, New York, p. 3-37, 1987.

NELSON, R.J; CHIAVEGATTO, S. Aggression in knockout mice. **Inst Lab Anim Res J**. v. 41, n. 3, p.153-162, 2000.

NELSON, R.J., TRAINOR, B.C. Neural mechanisms of aggression. **Nat Rev Neurosci**. v. 8, n. 7, p.536-546, 2007.

ORLANDO, R. et al. Nanomolar concentrations of anabolicandrogenic steroids amplify excitotoxic neuronal death in mixed mouse cortical cultures. **Brain Research**, v. 11, n. 65, p. 21-29, 2007.

PAGONIS, T.A . et al. Psychiatric side effects induced by supraphysiological does of combinations of anabolic steroids correlate to the severity of abuse. **Eur. Psychiatry**. V. 21, p.551—562, 2006.

PAVLOV, I.P; ANREP, G. V. **Conditioned Reexes; An Investigation of the Physiological Activity of the Cerebral Cortex**. Oxford University Press/ Humphrey Milford, London, 1927.

PAKKENBERG, B; GUNDERSEN, H. J. G. Solutions to old problems in the quantitation of the central nervous system. **Journal of the Neurological Sciences** v. 21, n. 129, p.65-67, 1995.

PAXINOS, G; FRANKLIN, K. B. J. **The mouse brain in stereotaxic coordinates**, 4.ed. Academic Press, Amsterdam, Elsevier, 2012.

PERRY, P. J. et al. Psychiatric symptoms associated with anabolic steroidsa controlled,

retrospective study. **Ann Clin Psychiatry**, p.211-17, 1990.

PHAN, K. L. et al. Functional neuroanatomy of emotion: a meta-analysis of emotion activation studies in PET and fMRI. **Neuroimage**, v.16, p.331-48, 2002.

PHELPS, E.A; LEDOUX, J.E. Contributions of the amygdala to emotion processing: from animal models to human behavior. **Neuron**, v. 48, p.175-187, 2005.

PEDRINELLI, A. O doping no esporte . Boletim do Corpo Clínico do Hospital das Clínicas FMUSP. p.563-5, 1993.

PIRNIK, Z; KISS, A. Fos expression variances in mouse hypothalamus upon physical and osmotic stimulus-staining with vasopressin, oxytocin, and tyrosine hydroxylase. **Brain Res. Bull**, v. 65, p.423-431, 2005.

POPE JR; H. G; KATZ, D. L. **Bodybuilders' psychosis**. *Lancet* 1863, 1987.

POPE JR., H.G. KATZ, D.L.Homicide and near-homicide by anabolic steroid users . **J Clin Psychiatry**, v.51, p.28-31, 1990.

POPE, H. G. JR; KATZ, D. L. Affective and psychotic symptoms associated with anabolic steroid use. **Am J Psychiatry**, v.145, n.4, p.487-493, 1988.

POPE, H. G JR; KATZ, D. L. Affective and psychotic symptoms associated with anabolic use. **Am J Psychiatry**, v.145, n.48, p.790, 1988.

POPE, H. G. JR. et al. Effects of supraphysiological doses of testosterone on mood and aggression in normal men: a randomized controlled trial. **Arch Gen Psychiatry**, v. 57, n. 133, p. 40, 2000.

POPE, H. G; KATZ, D. L. Psychiatric and medical effects of anabolic-androgenic steroid use. **Arch Gen Psychiatry**, v. 51, p.375-82, 1994.

PORGES, S.W. Social engagement and attachment: a phylogenetic perspective. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1008, p.31-47, 2003.

PRICE, J.L. et al. **The limbic region. The amygdaloid complex**. Elsevier Science. New

York:, 1987.

RANG, H. P. et al. **Pharmacology** , 6a. ed., Elsevier, New York, 2008.

[RAUCH SL](#), [SHIN LM](#), [PHELPS EA](#). Neurocircuitry models of posttraumatic stress disorder and extinction: human neuroimaging research--past, present, and future. [Biol Psychiatry](#), v. 15; n. 4, p.376-82, 2006.

REDONDO, F. R. Efeitos do uso de esteroides anabolizantes associados ao treinamento físico de natação sobre o fluxo sanguíneo para o miocárdio de ratos normotensos. 2007. 126 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica da Atividade Motora) - Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, 2007.

RICCI, L. A. et al. Lasting changes in neuronal activation patterns in select forebrain regions of aggressive, adolescent anabolic/androgenic steroid-treated hamsters. **Behavioural Brain Research**, v. 176, n. 34, p.452, 2007.

RICCI, L.A. et al. Serotonin type-3 receptors stimulate offensive aggression in Syrian hamsters. **Behavioral Brain Research**, v.156, p.1929, 2005.

ROCHA, F.L. et al. Anabolic steroids induce cardiac renin-angiotensin system and impair the beneficial effects of aerobic training in rats. **American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology**, v. 293, p.H3575-83, 2007.

ROSEN, L.B. Freud's doctors and their role in the management of his last illness. **Annals of the Royal College of Physicians and Surgeons of Canada**, v. 27, p.287-90, 1994.

ROSSBACH, U.L. et al.. Nandrolone-induced hippocampal phosphorylation of NMDA receptor subunits and ERKs. **Biochem Biophys Res Commun**, v.357, n.4, p.1028-1033, 2007.

RUBINOW, D. R; SCHMIDT, P. J. Androgens, brain, and behavior . **Am J Psychiatry**, v. 15, n. 39, p.74-84, 1996.

SALAS-RAMIREZA, K.Y. et al. Anabolic steroids have long-lasting effects on male social behaviors. **Behav Brain Res**. v. 208, n. 2, p. 328–335, 2010.

SHAHIDI, N.T. A Review of the Chemistry, Biological Action, and Clinical Applications of Anabolic-Androgenic Steroids. **Clin Ther**, v.23, n.9, p.1355-1390, 2005.

SCHNZER, W. Metabolism of anabolic androgenic steroids. **Clin Chem**, v.42, n.7, p.100-120, 1996.

SCERBO, A.S., KOLKO, D.J., Salivary testosterone and cortisol in disruptive children: relationship to aggressive, hyperactive, and internalizing behaviors. **J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry**, v. 33, p.1174-1184, 1994.

SCHULTE, A. et al. Induction of squamous cell carcinomas in the mouse lung after long-term inhalation of polycyclic aromatic hydrocarbon-rich exhausts. **Exp Toxicol Pathol**, v.45, p.415-421, 1993.

SCHULTE, H. M. et al. Domestic violence associated with anabolic steroid abuse. **Am J Psychiatry**, v.150, p.348, 1993.

SHAHIDI, N. T. A Review of the Chemistry, Biological Action, and Clinical Applications of Anabolic-Androgenic Steroids. **Clin Ther**, v. 23, n. 9, p.1355-1390, 2001.

SCHWERIN, M.J. et. al. Social physique anxiety, body esteem, and social anxiety in bodybuilders and self-reported anabolic steroid users. **Addictive Behav**, v. 21, p. 18, 1996.

SCOTT, D. M; . et al. Anabolic steroid use among adolescents in Nebraska schools. **Am J Health-Syst Pharm**, v.53, p.2068-2072, 1996.

SJQVIST, F; GARLE, M; RANE, A. Use of doping agents, particularly anabolic steroids, in sports and society. **Ann Rev Med**, v.35, p.207-217, 2008.

STRAUMAN, T. J. et al. Self-regulatory cognition and immune reactivity: idiographic success and failure feedback effects on the natural killer cell. **Brain Behav Immun**, v.18, n.6, p.544-54, 2004.

STRAWFORD, A. et al. Effects of nandrolone decanoate therapy in borderline hypogonadal men with HIV-associated weight loss. **J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol**. V.20, n.2, p.137-146, 1999.

SU, T; PAGLIARO. et al. Neuropsychiatric effects of anabolic steroids in male normal volunteers. **JAMA**, v. 269, n. 21, p.2760-2764, 1993.

SVARE, B.B. Anabolic steroids and behavior: a preclinical research perspective. **NIDA Res Monographs**, v.102, p.224–41, 1990.

TAGARAKIS, C. V. et al. Anabolic steroids impair the exercise-induced growth of the cardiac capillary bed. **International Journal of Sports Medicine**, v.2, p.412-418, 2000.

TAKAHACHI, M; TATSUGI, Y; KOHNO, T. Endocrinal and pathological effects of anabolic-androgenic steroid in male rats. **Endocrine Journal**, v.51, p.425-34, 2004.

TALIH, F; FATTAL, O; MALONE JR, D. Anabolic steroid abusepsychiatric and physical costs. **Cleve Clin J Med**, v. 74, p.341-4, 2007.

TENNANT, F; BLACK, D. L ; VOY, R. O. Anabolic steroid dependence with opioid-type features. **N Engl J Med**, v.31, n.95, p.78, 1988.

THEIN, L.A; THEIN, J.M; LANDRY, G.L. Ergogenic aids. **Phys Ther**, v.75, p. 426-438, 1995.

THIBLIN, I; FINN, A; ROSS, S.B; STENFORS, C. Increased dopaminergic and 5-hydroxytryptaminergic activities in male rat brain following long-term treatment with anabolic androgenic steroids. **Br J Pharmacol**, v.126, n.6, p.1301-1306, 1999.

TRENTON, A.J., CURRIER, G.W., Behavioural manifestations of anabolic steroid use. **CNS Drugs**, V.19, p.571—595, 2005.

TUCCI, P. et. al. Neurochemical consequence of steroid abusestanozolol-induced monoaminergic changes. **Steroids**, v. 77, p. 269-75, 2012.

VAN STRIEN, N. M. et al. The anatomy of memoryan interactive overview of the parahippocampal-hippocampal network. **Nat Rev Neurosci**, v. 10, p. 272-282, 2009.

VOGEL, W. et al. Comparison of the antidepressant effect of a synthetic androgen (mesterolone) and amitriptyline in depressed men. **J Clin Psychiatry**, p.466-8, 1985.

VOLAVKA, J; BILDER, R; NOLAN, K. Catecholamines and aggressionThe role of COMT and MAO polymorphisms. **Ann N Y Acad Sci**, v.10, n. 36, p.393-398, 2004.

WALSH, R. N; CUMMINS, R. A. The open-field test a critical review. **Psychological Bulletin**, v. 83, p.482-504, 1976.

WANG, C. et al. Testosterone replacement therapy improves mood in hypogonadal men—a clinical research center study. **J Clin Endocrinol Metab.** V. 81, n. 10, p. 3578–3583, 1996.

WEINECK, J. Fatores que influenciam a capacidade de desempenho esportivo. In WEINECK, J. **Biologia do Esporte**, 7^a.ed, Editora Manole, parte IX, p.417- 544. 2005.

WEST, M. J. New stereological method of counting neurons. **Neurobiology of Aging**, v.12, n.14, p.275-285, 1993.

WEST, M. J. Regionally specific loss of neurons in the aging human hippocampus. **Neurobiology of Aging**, v. 14, p.287-293, 1993.

WILSON, J.D; ANDROGENS INGILMAN, A. G; RALL, T. W; NIES, A. S; TAYLOR, P; Goodman Gilmans. **The Pharmacological Basis of Therapeutics**, 9th ed. Singapore, McGraw-Hill Book Co., 1441-57, 1996.

WOMMACK, J.C, DELVILLE, Y. Chronic social stress during puberty enhances tyrosine hydroxylase immunoreactivity within the limbic system in golden hamsters. **Brain Res**, v. 933, p.139-143, 2002.

WEINER, D. M. et al. D1 and D2 dopamine receptor mRNA in rat brain. **Proc.Natl. Acad. Sci**, v. 88, p.1859-1863, 1991.

WILLIAMS, L. M. et al. Mode of functional connectivity in amygdala pathways dissociates level of awareness for signals of fear. **J Neurosci**, v.26, n.36, p.9264-9671, 2006.

WOOD, R.I. Anabolic steroids. A fatal attraction? **Journal of Neuroendocrinology**, v. 18, n. 3, p.227-8, 2006.

YANG P. et al. Mechanisms of anabolic androgenic steroid modulation of alpha (1) beta (3) gamma (2L) GABA(A) receptors. **Neuropharmacology**, v. 43, n. 4, p.619-633, 2002.

YESALIS, C. E. et al. History of anabolic steroid in sport and exercise. In Yesalis CE, ed. **Anabolic Steroids in Sport and Exercise**. Champaign: **Human Kinetics**, p.51-71, 1993.

YONAMINE, M; SILVA, O. A. Dopagem no esporte. In Tirapegui J. **Nutrição, metabolismo e suplementação na atividade física**. São Paulo, Atheneu, p.189-197, 2005.

ANEXO
ANEXO A – Aprovação do experimento pelo comitê de Ética



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Alfenas . UNIFAL-MG
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 714 . Alfenas/MG . CEP 37130-000
Fone: (35) 3299-1000 . Fax: (35) 3299-1063



Alfenas, 06 de maio de 2013.

Prof. Carlos Giovani de Oliveira Nascimento

Prezado Professor;

O projeto sob sua coordenação, registro nº 505/2013, intitulado “Análise quantitativa de corpos celulares de neurônios do hipotálamo, tálamo e amígdala de camundongos tratados com esteroides anabolizantes” está em conformidade com os princípios éticos exigidos na experimentação animal, tendo sido apreciado e aprovado por essa Comissão.

Por ser verdade, firmo o presente.



Prof Dr Carlos Giovani de Oliveira Nascimento
Presidente da CEUA – Unifal-MG

